

# **Wirkung von antibiotikahaltigen Knochenzementen auf Staphylokokken**

## **Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades**

doctor medicinae dentariae

(Dr. med. dent.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von

Friederike Wäldrich

geboren am 30.06.1984 in Weimar

**Gutachter:**

1. Prof. Dr. Wolfgang Pfister, Jena
2. Prof. Dr. Georg Matziolis, Eisenberg
3. Prof. Dr. Thomas Hoffmann, Dresden

**Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.10.2015**

# Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATCC	American type culture collection
C°	Grad Celsius
cm <sup>2</sup>	Quadratzenimeter
cm <sup>3</sup>	Kubikzenimeter
G	Gentamicin
h	Stunden
iv	intravenös
KBE	Kolonie bildende Einheiten
KNS	koagulasenegative Staphylokokken
MHK	minimale Hemmkonzentration
µl	Mikroliter
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRSA	Methicillin - resistenter Staphylococcus aureus
PBS	phosphate buffered saline
PCR	Polymerasekettenreaktion
PE	Polyethylen
PMMA	Polymethylmethacrylat
R	Referenzmaterial
Sr – HA	Hydroxylapatit - Knochenzemente
S. aureus	Staphylococcus aureus
S. epidermidis	Staphylococcus epidermidis
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
V	Vancomycin

# Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung .....	4
2	Einleitung .....	5
2.1	Staphylococcus aureus.....	5
2.2	Staphylococcus epidermidis .....	6
2.3	MRSA.....	6
2.4	Periprothetische Infektionen.....	7
2.5	Antibiotikahaltige Knochenzemente .....	9
2.6	Antibiotikaresistenzen .....	10
3	Zielsetzung der Arbeit .....	11
4	Material und Methoden .....	12
4.1	Materialien.....	12
4.1.1	Bakterienstämme .....	12
4.1.2	Die Prüfkörper .....	13
4.2	Methoden .....	14
4.2.1	Variante 1 .....	14
4.2.2	Variante 2 .....	14
4.2.3	Versuchsvorbereitung.....	14
4.2.4	Versuchsablauf: Variante 1 .....	14
4.2.5	Versuchsablauf: Variante 2 .....	16
4.2.6	Auswertung der Ergebnisse.....	18
5	Ergebnisse.....	19
5.1	Staphylococcus aureus ATCC 29213 .....	20
5.1.1	Palacos R .....	20
5.1.2	Palacos R+G .....	21
5.1.3	Copal.....	22
5.1.4	Copal G+V.....	24
5.2	Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA).....	25
5.2.1	Palacos R .....	25
5.2.2	Palacos R+G .....	26

5.2.3	Copal.....	27
5.2.4	Copal G+V.....	28
5.3	Staphylococcus aureus VA 415/05.....	29
5.3.1	Palacos R.....	29
5.3.2	Palacos R+G.....	30
5.3.3	Copal.....	31
5.3.4	Copal G+V.....	32
5.4	Staphylococcus aureus VA 657/05.....	34
5.4.1	Palacos R.....	34
5.4.2	Palacos R+G.....	35
5.4.3	Copal.....	36
5.4.4	Copal G+V.....	37
5.5	Staphylococcus aureus VA 1574/05 (MRSA).....	38
5.5.1	Palacos R.....	38
5.5.2	Palacos R+G.....	39
5.5.3	Copal.....	40
5.5.4	Copal G+V.....	41
5.6	Staphylococcus epidermidis VA 24027/04.....	42
5.6.1	Palacos R.....	42
5.6.2	Palacos R+G.....	43
5.6.3	Copal.....	44
5.6.4	Copal G+V.....	45
6	Diskussion.....	47
6.1	Methodik.....	47
6.2	Keimspezifische Wirkung der Antibiotika.....	48
6.3	Zementspezifische Auswertung.....	50
7	Schlussfolgerungen.....	53
8	Literaturverzeichnis.....	54
9	Anhang.....	59
10	Danksagung.....	68
11	Lebenslauf.....	69
12	Ehrenwörtliche Erklärung.....	70

# 1 Zusammenfassung

Orthopäden und Chirurgen stehen heutzutage vor der schwierigen Wahl einen geeigneten Knochenzement für die Verankerung von Gelenkprothesen auszuwählen. Von der Firma Heraeus Medical GmbH werden weltweit sehr bekannte und anerkannte PMMA – Knochenzemente hergestellt und angeboten. In der hier vorliegenden Arbeit wurde unter in vitro – Bedingungen die Wirksamkeit der Antibiotika – beladenen PMMA – Knochenzemente Palacos R + G, Copal und Copal G + V auf 3 Stämme *S. aureus* (ATCC 29213, VA 415/05, VA 657/05), auf 2 Stämme *S. aureus* / MRSA (ATCC 43300, VA 1574/05) und einen Stamm *S. epidermidis* (VA 24027/04) untersucht und ausgewertet.

Es wurde die Anlagerung von Bakterien an der Grenzfläche Knochenzement / Knochen unter Berücksichtigung der Wundsekretbildung simuliert. Hierzu wurden den Probekörpern eine Bakterienanzahl zu Versuchsbeginn mit einer Konzentration der Bakterien von  $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  KBE pro ml zugegeben. Zusätzlich wurden die Probekörper mit unterschiedlichen Prüfkörpern (Palacos R, Palacos R + G, Copal und Copal G + V) versetzt. Die Probekörper wurden jeweils 24 Stunden bei 37 ° C inkubiert und dann auf Columbia-Agarplatten ausplattiert. Nach 24 Stunden wurden die Columbia – Agarplatten mit Hilfe des Acolyte – Click - and – Count - Verfahrens am PC ausgewertet. 9,33 ml Medium wurden den Probekörpern entnommen und durch 9,33 ml frisches Medium ersetzt. Dieser Vorgang wurde alle 24 Stunden für insgesamt 5 Tage wiederholt.

Für die 3 *S. aureus* Stämme kam es zu 45 auswertbaren Ergebnissen, für die 2 MRSA Stämme zu 33 Ergebnissen und für die *S. epidermidis* Stämme zu 14 Ergebnissen. Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass die beste antibakterielle Wirksamkeit hinsichtlich der Verhinderung und Bekämpfung des Bakterienwachstums von *S. aureus* (ATCC 29213, VA 415/05, VA 657/05) und *S. epidermidis* (VA 24027/04) am höchsten waren, wenn die Zemente Copal (enthält 1,0 g Gentamicin + 1,0 g Clindamycin) und Copal G + V (enthält 0,5 g Gentamicin + 2,0 g Vancomycin) verwendet wurden.

Bei den verwendeten MRSA Stämmen (ATCC 43300, VA 1574/05) wurde die höchste bakterielle Hemmung bei der Verwendung von Copal G + V (enthält 0,5 g Gentamicin + 2,0 g Vancomycin) beobachtet.

## 2 Einleitung

### 2.1 Staphylococcus aureus

Krankenhausinfektionen treten immer häufiger auf und verlaufen unter Umständen dramatisch. Diese sogenannten nosokomialen Infektionen werden häufig durch Staphylococcus aureus hervorgerufen. Es gibt über 30 verschiedene Arten der Staphylokokken – Keime, aber Staphylococcus aureus ist das Bakterium, welches am häufigsten vorkommt. Staphylococcus aureus ist ein grampositives, koagulasepositives Bakterium, das in der Lage ist Virulenzfaktoren zu exprimieren.

- **Zelluläre Virulenzfaktoren:**

Protein A	: Verhinderung der Phagozytose
Clumpingfaktor	: Bindung an Fibrin und Aktivierung von Fibrinmonomeren, Bildung eines Fibrinschutzwalls (z.B. um einen Abszess)

- **Sezernierte Virulenzfaktoren:**

Plasmakoagulase	: Bildung von Fibrin aus Fibrinogen (Fibrinschutzwall)
Staphylokinase (Fibrinolysin)	: Zerstörung des Fibrinschutzwalls, Ausbreitung im Organismus
Hyaluronidase, DNase	: weitere Ausbreitung im infizierten Organismus
Hämolysine ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ )	: Zerstörung von Erythrozyten und Phagozyten (Gewebschädigung)
Toxin-1 (TSST-1)	: Superantigen, Aktivierung von Makrophagen, Produktion von Zytokinen (TNF- $\alpha$ ), toxisches Schocksyndrom
Enterotoxine	: Superantigene, durch unsaubere Verarbeitung von Lebensmitteln bakterielle Vermehrung (hitzestabil), Lebensmittelvergiftung, Schock (Groß 2009b)

*Staphylococcus aureus* lebt oft unbemerkt auf der menschlichen Haut, kann jedoch über Hautrisse oder Haarfollikel in die Tiefe wandern und so Infektionen wie Furunkel oder ähnliches auslösen. Die Infektion äußert sich meist durch Eiter und kann mit entsprechender antibakterieller Salbe bekämpft werden. Gelangt *Staphylococcus aureus* in die Blutbahn, so kann es ernsthafte Infektionen wie Lungenentzündungen, endovaskuläre Infektionen, Endokarditis, Osteomyelitis oder Sepsis hervorrufen (David und Daum 2010).

Gerade in Krankenhäusern besteht ein höheres Infektionsrisiko für die Patienten, da ihr Immunsystem und der Hautschutzmantel durch Operationen geschwächt sind. Deshalb ist gerade dort ein hohes Maß an Hygiene erforderlich und im Operationssaal auf Sterilität zu achten.

## **2.2 *Staphylococcus epidermidis***

*Staphylococcus epidermidis* ist ein grampositives, koagulasenegatives Bakterium, das die menschliche Haut- und Schleimhaut besiedelt. Heutzutage therapeutisch eingesetzte Implantate und Prothesen, z.B. Hüftendoprothesen, bestehen aus Kunststoffen. Durch die hohe Adhäsionsfähigkeit an Polymeroberflächen von *S. epidermidis* kommt es zum Anstieg von so genannten fremdkörperassoziierten Infektionen. Durch die Koloniebildung der Keime mit körpereigenen Komponenten kommt es zur Bildung eines Biofilms an den Kunststoffen, welcher die Antibiotikawirksamkeit erschwert (O'Gara und Humphreys 2001, Groß 2009a).

Die Koloniebildung von *S. epidermidis* ist höher an Polymeren (Boelens et al. 2000) und die von *S. aureus* an Metallen (Barth et al. 1989)

## **2.3 MRSA**

*S. aureus* Stämme wurden ursprünglich mit Penicillinen bekämpft. Im Laufe der Zeit traten Stämme auf, die gegen das Antibiotikum resistent waren. Daraufhin entwickelte man Methicillin, ein Penicillin – Derivat. Aber auch hier kam es zur Bildung Methicillin-resistenter Formen des *S. aureus* (MRSA) aufgrund der Bildung des zusätzlichen Penicillin-Bindeproteins PBP2a, das durch das *mecA*-Gen kodiert wird (siehe Kapitel 2.6). Die antibiotische Resistenz wurde immer größer, weshalb man heute auch vom multiresistenten *S. aureus* spricht.



Das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken setzt sich mit der Dynamik der Entstehung und Ausbreitung von MRSA – Klonen auseinander, um eine weitere Ausbreitung zu überwachen (Layer et al. 2012).

Entscheidend ist, dass die verordnete Dosis und der Zeitraum des verabreichten Antibiotikums nicht immer eingehalten werden, sobald eine Besserung der Beschwerden auftritt. Hierdurch wird eine nicht ausreichende Anzahl der Bakterienstämme abgetötet und die verbliebenen können sich weiter ungehindert vermehren und eine Infektion auslösen.

Wichtig ist die schnelle Diagnostik einer MRSA – Infektion (French 2009), z.B. über Screening oder PCR-Methoden (Fischer et al. 2012). Kommt es zu einer MRSA – Infektion, sind Vorsorgemaßnahmen in Form von erhöhten Hygienemaßnahmen und Isolation des Patienten zu treffen, um eine weitere Ausbreitung zu verhindern (König et al. 1999). Häufig kommt es aufgrund mangelnder Krankenhaushygiene und fehlender Antibiotikaprohylaxe zur nosokomialen Infektion mit MRSA, vor allem auf Intensivstationen (Witte et al. 1994). Es kann sogar 5 Monate nach der letzten Infektion zum Vorhandensein von MRSA Keimen kommen (Fruhauf et al. 1996).

## **2.4 Periprothetische Infektionen**

Die periprothetische Infektion stellt eine ernst zu nehmende Komplikation in der Endoprothetik dar. Das klinische Symptom für eine periprothetische Infektion ist der Schmerz. Die Diagnose erfolgt über die Bestimmung des C-reaktiven Proteins und der Blutsenkungsgeschwindigkeit. Zum sicheren Infektionsnachweis empfiehlt sich zusätzlich die Gelenkpunktion. Perka und Haas (2011) unterteilen die Infektionen klinisch in 4 Behandlungssituationen.

- **Positive intraoperative Kultur:**

Hierzu werden 2-5 Gewebeproben intraoperativ entnommen. Es wird eine 3-tägige bis 6-wöchige spezifische Antibiotikatherapie empfohlen (iv oder kombiniert iv / oral).

- **Akute postoperative Infektion (Frühinfektion):**

Erfolgt ein positiver Kulturbefund mittels Gewebspunktion maximal 4 Wochen nach der Operation, spricht man von einer Frühinfektion. Die am Knochen oder durch Zemente fixierten Implantate werden zunächst belassen. Alle leicht entfernbaren Teile (z.B. Prothesenkopf) werden jedoch gewechselt.

- **Akute hämatogene Infektion:**

Diese Behandlungssituation ist gekennzeichnet durch das akute Auftreten von Symptomen durch Bakteriämien in anderen Teilen des Körpers (z.B. Atemwege, Harnwege, Gallenblase, Zähne, Hautoberflächen). Die Therapie entspricht der einer Frühinfektionen bei einer Symptombdauer unter 3 Wochen, sonst der einer Spätinfektion.

- **Spätinfektion:**

Kommt es später als 4 Wochen nach der Periimplantation zu einer Infektion, spricht man von einer Spätinfektion. Es ist ein Implantatwechsel angezeigt (einzeitig oder zweizeitig).

4 pathogenetische Gruppen von Krankheiten verringern die Haltbarkeit von Endoprothesen: periprotehetische abriebinduzierte Krankheit (aseptische Lockerung), bakterielle Infektion (septische Lockerung), periprotehetische Verknöcherung und Arthrofibrose (Krenn et al. 2011).

Bei einer Studie mit 62 Behandlungsfällen von infizierten Hüftendoprothesen kam es in 11 von 62 Fällen zu einer Frühinfektion, bei 51 Fällen zu Spätinfektionen (Babst et al. 1989). In einer 25 jährigen Studie mit Charnley Totalhüftarthroplastik waren die Patienten 25 Jahre nach Implantation zu 77,5% frei von Reoperationen, zu 80,9% frei von Revision oder Entfernung des Implantats aus irgendeinem Grund und zu 86,5% frei von Revision oder Entfernung durch aseptische Lockerung (Berry et al. 2002). Prothesenbezogene Infektionen der Hüfte treten nur noch zu 0,25-1% auf (Gallo et al. 2003, Gradl et al. 2011). Ein schlechterer Allgemeinzustand und die ständige Anwesenheit von Infektionserregern stellen wichtige Risikofaktoren für rezidivierende Infektionen nach Reimplantationen von Hüftendoprothesen dar (Spiegl et al. 2012).

## **2.5 Antibiotikahaltige Knochenzemente**

Die Verwendung von Antibiotika enthaltenen PMMA – Knochenzementen hat sich seit Jahrzehnten in der zementierten Endoprothetik für die Verankerung von Primärimplantaten und bei zweizeitigen Revisionen bewährt. PMMA - Knochenzemente sind mehr als ein aus Pulver und Flüssigkeit bestehendes Material. Je nach der Zusammensetzung ihrer Grundelemente erfüllt dieses komplexe Material verschiedene Funktionen am Einsatzort nach der Implantation (Breusch und Kuhn 2003). Zudem gibt es je nach Hersteller auch Unterschiede in den mechanischen Eigenschaften der PMMA - Knochenzemente und im Freisetzen der Antibiotika (Bridgens et al. 2008). Diese Zementeigenschaften wurden schon 1970 von Buchholz und Engelbrecht untersucht (Elson et al. 1977). Auch die Mischtechnik der einzelnen Komponenten charakterisiert die Eigenschaften der Knochenzemente (Eyerer und Jin 1986).

Es gilt weiterhin bakterielle Infektionen nach Gelenkersatz zu verhindern. Dazu gibt es unterschiedliche Ansätze und Studien. Chitosan ist ein natürlich vorkommendes Polyaminosaccharid, welches sich von Chitin ableitet. Durch diesen Zusatz wurde jedoch nicht der erwartete antimikrobielle Nutzen erreicht (Tunney et al. 2008), aber doch die Bakterienadhärenz verringert (Tan et al. 2012b, Tan et al. 2012a). In zweistufigen orthopädischen Revisionseingriffen reicht es nicht, routinehalber Gewebekulturen anzulegen, um Infektionen nachzuweisen. Man hat herausgefunden, dass Bakterien z.B. auf Gentamicin - beladenen Perlen haften und somit die Wulstflächen als Indikator für eine Infektion überprüft werden müssen (Neut et al. 2001).

In bisher bekannten Untersuchungen wurden z.B. die bakterielle Hemmung durch den direkten Kontakt des Antibiotikums im Knochenzement und die bakterielle Hemmung durch die Diffusion des Antibiotikums betrachtet (Heard und Oloff 1989), nicht jedoch der Einfluss der Wundsekretbildung und die damit verbundene Ausschwemmung des Antibiotikums in Abhängigkeit von der Zeit nach Implantation. Mit diesen Einflussparametern sollte das Erreichen bzw. Überschreiten der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) für Implantat – assoziierte Infektionen bestimmt werden. Die MHK ist die niedrigste Konzentration des Antibiotikums, die gerade noch die Vermehrung von Bakterien verhindern kann. Um die MHK zu garantieren, ist eine regelmäßige Einnahme des Antibiotikums notwendig, um somit einen Wirkspiegel aufzubauen und zu halten.

## **2.6 Antibiotikaresistenzen**

Eine Antibiotikatherapie bei *Staphylococcus aureus* Infektionen mit Penicillin führt meist nicht zum erhofften Erfolg, da die meisten Stämme resistent gegen Penicilline sind. Penicillin gehört zu den Beta – Laktam – Antibiotika, die die Zellwandsynthese der Bakterien und somit deren Wachstum hemmen. Die Resistenz der *Staphylococcus aureus* - Stämme gegen Penicilline beruht auf der Ausbildung von Betalaktamasen. Diese sogenannten Penicillinasen sind Enzyme, die den Beta – Laktam – Ring von Penicillinen spalten und das Antibiotikum dadurch unwirksam machen. Zusätzlich kommt es zu Resistenzen durch die Veränderung des Penicillin - bindenden Proteins (PBP2a), wodurch das Betalaktam – Antibiotikum durch gestörte Adhärenz nicht mehr die Zellwandsynthese des Bakteriums stören kann. Dies ist vor allem bei MRSA – Stämmen zu beobachten (Groß 2009a).

### 3 Zielsetzung der Arbeit

Die Zielsetzung der Arbeit bestand in der In vitro – Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Antibiotika enthaltenden PMMA – Knochenzementen unter Simulation der In vivo – Bedingungen. Dabei wurden unterschiedliche Antibiotika – enthaltende Knochenzemente einbezogen. Es wurde die Anlagerung von Bakterien an der Grenzfläche Knochenzement / Knochen unter Berücksichtigung der Wundsekretbildung simuliert. Die Versuchsvarianten unterschieden sich in der Bakterienanzahl zu Versuchsbeginn mit einer Konzentration der Bakterien von  $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  KBE pro ml.

Am Ende der Studie soll ein nachvollziehbarer Versuchsaufbau zur Prüfung von Antibiotika – enthaltenden Knochenzementen vorliegen, mit dem Vergleichsuntersuchungen mit unterschiedlichsten antibiotisch beladenen PMMA – Knochenzementen durchgeführt werden können. Diese Vergleichsuntersuchungen können eine Grundlage für eine effektive Dosisfindung sein. Des Weiteren sollen die Ergebnisse Aussagen über die antimikrobielle Wirksamkeit der Knochenzemente Palacos R + G, Copal und Copal G + V liefern.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Materialien

#### 4.1.1 Bakterienstämme

Ausgewählt wurden in erster Linie Staphylokokkenstämme (Tabelle 1), die eine große Rolle bei fremdkörperinduzierten Infektionen in Krankenhäusern, beispielsweise nach dem Einsetzen von Hüftendoprothesen (HEP), spielen. Auch diese Staphylokokken - Stämme zeigen ein großes Spektrum an Antibiotikaresistenzen. Deshalb sollte untersucht werden, welche Antibiotika die besten Wirkungen gegen diese Bakterien besitzen.

Zwei Stämme von *S. aureus* stammten aus der ATCC - Sammlung. Weiterhin wurden vier klinische Isolate (Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum Jena) in die Untersuchungen einbezogen. Diese wurden bei orthopädischen Infektionen nachgewiesen. Es handelte sich um zwei *S. aureus* - Stämme und einen *S. epidermidis* - Stamm.

Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Testkeime

<b>Herkunft</b>	<b>Testkeim-Bezeichnung</b>
ATCC	<i>S. aureus</i> ATCC 29213
ATCC	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)
Klinisches Isolat	<i>S. aureus</i> VA 415/05
Klinisches Isolat	<i>S. aureus</i> VA 657/05
Klinisches Isolat	<i>S. aureus</i> VA 1574/05 (MRSA)
Klinisches Isolat	<i>S. epidermidis</i> VA 24027/04

#### 4.1.2 Die Prüfkörper

Für die Herstellung der Prüfkörper wurden folgende Knochenzemente genutzt:

1. Palacos R+G
2. Copal
3. Copal G+V

Als Referenzmaterial wurde Palacos R ohne Antibiotika - Zusatz von Heraeus Medical GmbH verwendet.

Tabelle 2: Zusammensetzung der PMMA - Knochenzemente

	Polymerpulver Opaker BPO [g]	Gentamicin [g]	Clindamycin [g]	Vancomycin [g]
Palacos R+G	40,00	0,5	-	-
Copal	40,00	1,0	1,0	-
Copal G+V	40,00	0,5	-	2,0
Palacos R	40,00	-	-	-

Die Prüfkörper wurden von Heraeus Medical GmbH zur Verfügung gestellt. Es wurde Zement mit 20 ml Monomer vermischt worden. Diese Mischung wurde in zylindrische Hohlformen (Höhe: 12 mm, Durchmesser: 6 mm, Oberfläche: 0,283 cm<sup>2</sup>) gestrichen. Nach der Aushärtung des Zementteigs wurden die Prüfkörper in Papier – PE - Beutel verpackt und versiegelt. Der Polyethylen - Beutel war undurchlässig für Luft und Feuchtigkeit. Die Prüfkörper wurden in den so versiegelten Beuteln bei Raumtemperatur bis zum Versuchsbeginn gelagert.

## **4.2 Methoden**

### **4.2.1 Variante 1**

In Versuchsvariante 1 erfolgte eine Vorbereitung der Prüfkörper, indem sie in 5 ml Schafsblut 30 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Danach wurden die Prüfkörper entnommen und in neuen Greiner - Röhrchen mit der Hirn – Herz - Nährbouillon und der Bakterienzellsuspension in einer Konzentration der Bakterien von  $10^6$  versetzt (genauer Ablauf 4.2.4).

### **4.2.2 Variante 2**

Im Gegensatz zu Variante 1 wurden in der Variante 2 Bakterienzellsuspensionen in drei unterschiedlichen Konzentrationen beigegeben ( $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  KBE pro ml, unter 4.2.5 genau beschrieben).

### **4.2.3 Versuchsvorbereitung**

Zu Beginn des Versuches wurden zunächst sterile Greiner - Röhrchen mit dem Namen des jeweiligen Bakterienstammes und dem verwendeten Zement gekennzeichnet.

### **4.2.4 Versuchsablauf: Variante 1**

Um eine mögliche Kontamination der Materialien zu vermeiden, erfolgte die Durchführung der nachfolgenden Arbeitsschritte unter der Laminarbox.

Es wurden jeweils drei Prüfkörper in ein 50 ml Greiner - Röhrchen gegeben und mit je 5 ml Schafsblut für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Während dieser 30 min wurde eine Bakteriensuspension mit einer Dichte von  $10^6$  KBE pro ml hergestellt. Die Probekörper wurden anschließend entnommen und in ein neues 50 ml Greiner - Röhrchen überführt. Dazu wurden 9,80 ml Medium (Hirn – Herz - Nährbouillon) plus 0,85 ml einer Bakterienzellsuspension (Zelldichte  $10^6$  KBE pro ml, entspricht einer Zelldichte von  $10^6$  pro Quadratzentimeter Zementoberfläche) zu den Prüfkörpern gegeben und bei 37 °C inkubiert.

Nach 24 Stunden wurden 9,33 ml Medium entnommen und durch 9,33 ml frisches Medium ersetzt. Von dem entnommenen Medium wurden 0,1 ml auf eine Columbia - Agarplatte



(Abb.1) ausplattiert (bei getrüübter Bouillon zusätzlich 1 : 100 und 1 : 10 000 verdünnt) und 0,1 ml wurden in frische Hirn – Herz - Bouillon gegeben. Die Reagenzgläser mit den 0,1 ml des entnommenen Mediums wurden zusammen mit den Agarplatten bei 37°C inkubiert. Die 5 ml Hirn – Herz - Bouillon wurde täglich bis zum 6. Tag nach Versuchsbeginn auf Trübung kontrolliert.



Abbildung 1: Columbia - Agarplatte

Nach weiteren 24 Stunden (48 Stunden nach Versuchsbeginn) waren auf den Nährböden Kolonien sichtbar und diese wurden gezählt.

Gleichzeitig wurde das Vorgehen wie 24 Stunden nach Versuchsbeginn wiederholt. Es wurden aber nur noch 8,66 ml des Mediums ausgetauscht.

Nach 72, 96 und 120 Stunden wurden jeweils 8,13 ml Medium ausgetauscht.

Insgesamt sollten somit pro Prüfkörper und Stamm mindestens 15 Einzelergebnisse vorliegen.

Tabelle 3: Übersicht über Entnahmezeitpunkte des Mediums und über Volumina des zu ersetzenden Mediums pro Entnahmezeitpunkt

Entnahmezeitpunkt des Mediums	Volumen Steriles Ersatzmedium [ml]
24 h	9,33
48 h	8,66
72 h	8,13
96 h	8,13
120 h	8,13

Die Menge des Ersatzmediums, das zugegeben und entnommen wurde, wurde verringert, da dies die sinkende Wundsekretbildung nach der Operation simulieren sollte.

#### 4.2.5 Versuchsaufbau: Variante 2

Die Durchführung der Arbeitsschritte erfolgte wieder unter der Laminarbox.

Es wurden wiederum jeweils drei Prüfkörper in ein 50 ml Greiner - Röhrchen gegeben und mit je 5 ml Schafsblut für 30 min bei 37 °C inkubiert.

Die Bakteriensuspensionen wurden in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Es wurden beispielsweise 15 ml einer Lösung benötigt, um von dieser mehrmals 850  $\mu$ l Bakterienzellsuspension in unterschiedlichen Konzentrationen entnehmen zu können, weil mehrere Prüfkörper parallel untersucht werden sollten.

Von 850  $\mu$ l Bakterienzellsuspension (in denen sich  $10^6$  KBE pro ml befanden) entnahm man 150  $\mu$ l und gab diese zu 14,85ml physiologisch gepufferter NaCl - Lösung. So wurde eine 1 : 100 verdünnte Lösung hergestellt (mit  $10^4$  KBE pro ml). Von dieser wurden nochmals 150  $\mu$ l entnommen und zu 14,85 ml physiologisch gepufferter NaCl - Lösung gegeben. Damit konnte eine nochmals 100 fach höhere Verdünnung mit  $10^2$  KBE pro ml hergestellt werden.

Danach wurden die Probekörper entnommen und in ein neues 50 ml Greiner - Röhrchen überführt. Es erfolgte die Zugabe von 9,80 ml Medium (Hirn – Herz - Nährbouillon) plus 0,85 ml einer Bakterienzellsuspension zu den Prüfkörpern und die Inkubation bei 37 °C.

Es wurden jeweils 0,85 ml Bakterienzellsuspension in drei unterschiedlichen Konzentrationen zugegeben. Die Zelldichten entsprachen jeweils  $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  KBE pro ml.

Nach 24 Stunden wurden 9,33 ml Medium entnommen und durch 9,33 ml frisches Medium ersetzt. Von dem entnommenen Medium wurden 0,1 ml auf eine Columbia - Agarplatte ausplattiert (bei getrüberter Bouillon zusätzlich 1 : 100 verdünnt). Die Reagenzgläser mit den 0,1 ml des entnommenen Mediums wurden zusammen mit den Agarplatten bei 37°C inkubiert. Die 5 ml Hirn – Herz - Bouillon wurden täglich auf Trübung kontrolliert.

Nach 48 Stunden wurde das Vorgehen wiederholt. Es wurden aber nur noch 8,66 ml des Mediums ausgetauscht.

Nach 72, 96 und 120 Stunden wurden jeweils 8,13 ml Medium ausgetauscht und weiterhin die Hirn – Herz - Bouillon auf Trübung untersucht. Sobald eine Trübung dieser Bouillon auftrat, wurde der Versuch beendet.

Es wurden jeweils mindestens drei Einzelergebnisse pro Verdünnung und Keim angestrebt.

#### 4.2.6 Auswertung der Ergebnisse

Wie bereits erwähnt, wurden in jedem Versuchsablauf jeweils nach 24 Stunden 0,1 ml des Mediums entnommen und auf Columbia - Agarplatten ausplattiert. Nach Inkubation der Agarplatten bei 37 °C für jeweils 24 Stunden wurde die Zahl der koloniebildenden Einheiten mit Hilfe eines Koloniezählers (aCOLyte) bestimmt. Der aCOLyte Kolonienzähler kommuniziert mit einem PC und überträgt die Bilder direkt auf den PC. Mit der Click'n'Count Version von aCOLyte konnten die Kolonien problemlos ausgezählt werden. Sie erschienen als Zahlenwerte auf dem PC.



Abbildung 2: aCOLyte Kolonienzähler, Beispielbild auf dem PC-Bildschirm

Die Auswertung erfolgte keim- und zementspezifisch.

Weiterhin wurde ausgewertet, ob bei Einsatz geringerer Keimzahlen eine höhere Effektivität der Antibiotika gegeben war.

## 5 Ergebnisse

Im Rahmen der Versuche wurden zum Zeitpunkt 0 Stunden  $10^6$ ,  $10^4$  oder  $10^2$  Keime pro ml dem Medium zugegeben. Die Ergebnisse werden in Keime / ml in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Es wurden in Abständen von jeweils 24 Stunden 5 mal Proben des Mediums entnommen und die jeweiligen Keimzahlen mit Hilfe des Kolonienzählers bestimmt.

Die Säulendiagramme setzen sich insgesamt aus acht bis elf Einzelergebnissen mit jeweils  $10^6$  Keimen / ml zu Versuchsbeginn zusammen.

In den Tabellen sind die positiven Prüfkörper nach jeweils 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden dargestellt. Es wird unterschieden zwischen den Keimzahlen zu Versuchsbeginn (zum Zeitpunkt 0 Stunden) zwischen anfänglich  $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  Keimen.

## 5.1 Staphylococcus aureus ATCC 29213

### 5.1.1 Palacos R

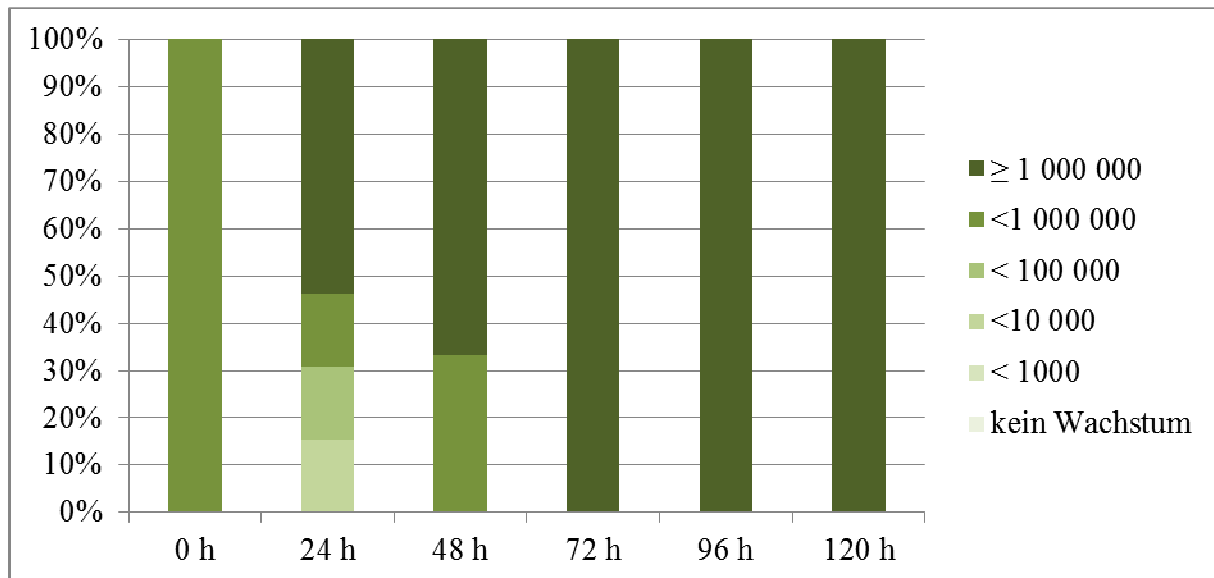


Abbildung 3: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Palacos R diente als Referenzmaterial ohne Antibiotika - Zusatz. Dementsprechend konnte man bereits nach 24 Stunden bei über 50% der Proben einen rapiden Anstieg der Bakterienzahl im Medium auf über 1.000.000 Keime / ml erkennen. Nach 72 Stunden waren in allen Probenröhrchen die Bakterien auf eine Zahl von über 1.000.000 Bakterien / ml angestiegen (Abbildung 3).

Tabelle 4: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
48 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
72 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
96 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 4).

### 5.1.2 Palacos R+G

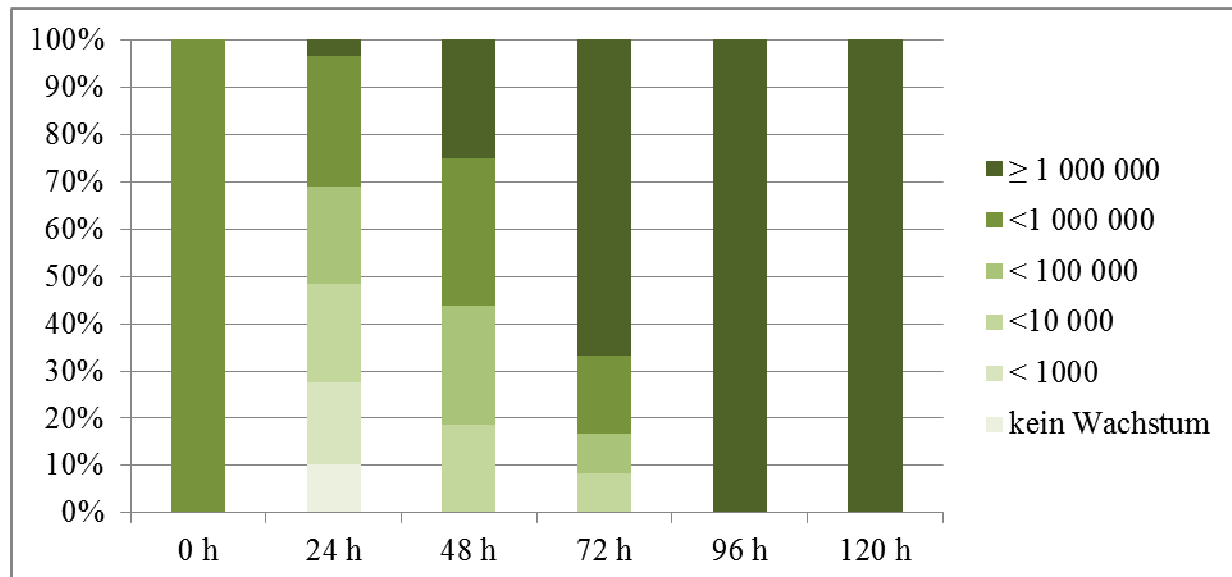


Abbildung 4: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Durch den Zusatz von 0,5 g Gentamicin konnte zunächst das Bakterienwachstum nach 24 Stunden reduziert werden und die Bakterienanzahl verringerte sich bei vier von neun Prüfkörpern auf unter 100.000 Keime (Abbildung 4).

Aber bereits nach 72 Stunden waren nur noch zwei von neun Prüfkörpern unter einer Zahl von  $10^6$  Keimen.

Nach 96 Stunden war die Bakterienzahl in allen Proben größer als  $10^6$  / ml.

Tabelle 5: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	1 / 3	0 / 3	6 / 9
48 h	1 / 3	2 / 3	9 / 9
72 h	1 / 3	3 / 3	9 / 9
96 h	1 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	1 / 3	3 / 3	9 / 9

Bei geringerer Keimanzahl zu Versuchsbeginn erfolgte das Wachstum auch weniger schnell. Bei anfänglich  $10^6$  Keimen waren die Prüfkörper bereits nach 48 Stunden positiv. Bei nur  $10^4$  Keimen zu Versuchsbeginn waren erst nach 72 Stunden alle Prüfkörper positiv und bei nur  $10^2$  Keimen zu Versuchsbeginn kam es bei zwei von drei Prüfkörpern zu keinem Bakterienwachstum (Tabelle 5).

### 5.1.3 Copal

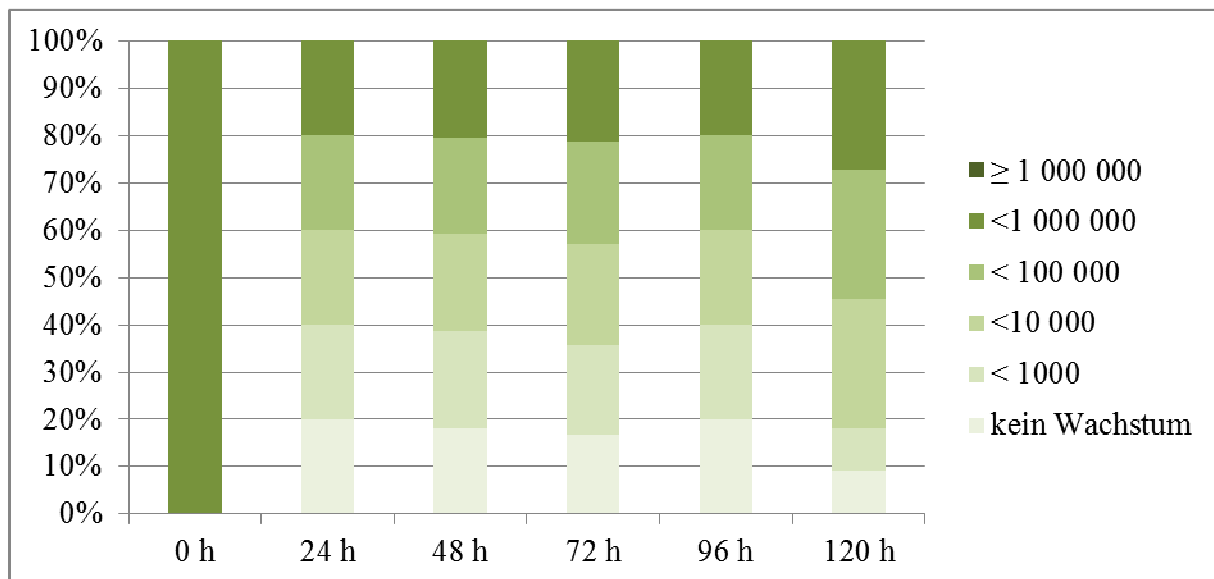


Abbildung 5: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden



Bei dem Zement Copal wurde der Gentamicin - Zusatz im Vergleich zu Palacos R + G verdoppelt auf 1,0 g. Zudem wurde dem Zement noch 1,0 g Clindamycin zugesetzt. Eine deutliche Reduktion der Keimzahl konnte beobachtet werden.

Bis 96 Stunden nach Versuchsbeginn wurde das Bakterienwachstum bei allen neun Prüfkörpern eingedämmt. Lediglich nach 120 Stunden kam es zum allmählichen Wachstum von weniger als  $10^6$  Bakterien in sechs von neun Proben (Abbildung 5).

Tabelle 6: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	0 / 3	0 / 9
48 h	0 / 3	0 / 3	1 / 9
72 h	0 / 3	0 / 3	2 / 9
96 h	1 / 3	1 / 3	0 / 9
120 h	0 / 3	2 / 3	6 / 9

Ein geringeres Bakterienwachstum trat auf, wenn die Anfangszahl der Keime reduziert worden war. Wurden  $10^2$  Keime zu Versuchsbeginn zugegeben, kam es nur in einmal zum Bakterienwachstum nach 96 Stunden, wohingegen zu allen anderen Zeitpunkten nach Beginn die Proben negativ blieben. Bei einer Konzentration von anfänglich  $10^4$  Keimen wurde ein erstes Wachstum in einer Probe 96 h nach Beginn festgestellt. Zwei von drei Proben waren nach 120 Stunden positiv. Beginnt man den Versuch mit  $10^6$  Keimen, so kann man nach 120 Stunden bei 6 von 9 Prüfkörpern ein positives Wachstum verzeichnen, aber auch bei dieser hohen Keimzahl waren die meisten der geprüften Proben bis 96 h negativ (Tabelle 6).

### 5.1.4 Copal G+V

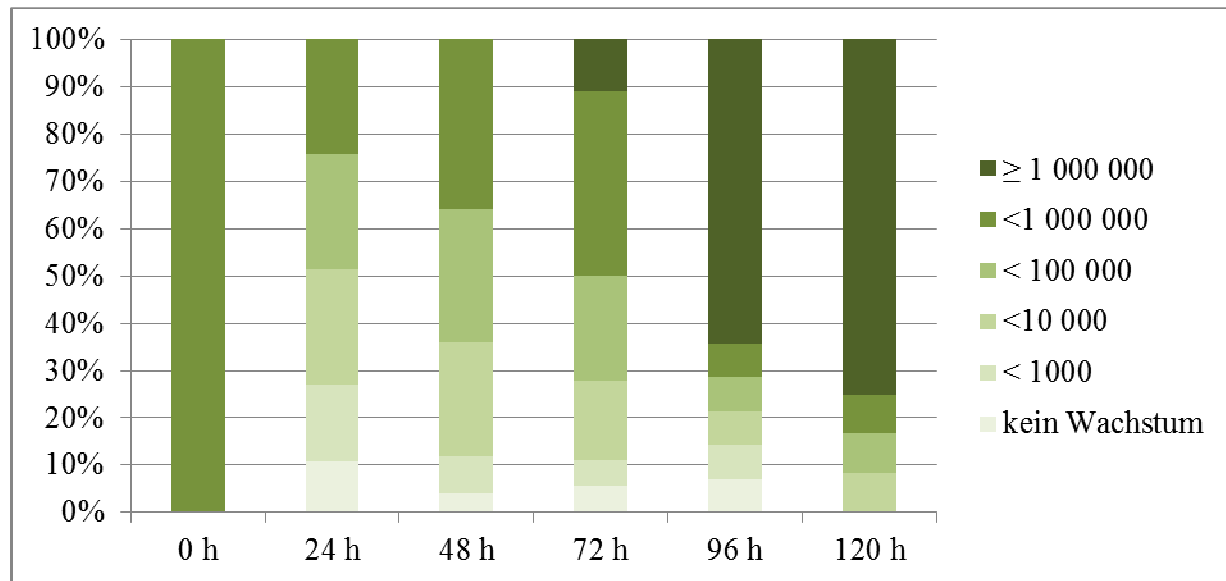


Abbildung 6: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Zement Copal G + V enthält wie Palacos R + G 0,5 g Gentamicin und zusätzlich noch 2,0 g Vancomycin. Bei einer Bakterienanzahl von  $10^6$  Keimen zu Versuchsbeginn kam es zunächst auch zu einer Keimreduktion nach 24 und 48 Stunden auf maximal 10 000 Keime. Die Zahl der Proben mit einer Keimzahl von  $\geq 10^6$  Bakterien / ml stieg kontinuierlich an, nach 120 h war in 75% der Proben eine solche Keimzahl nachweisbar (Abbildung 6).

Tabelle 7: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 29213 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	0 / 3	5 / 9
48 h	0 / 3	1 / 3	8 / 9
72 h	0 / 3	2 / 3	8 / 9
96 h	0 / 3	3 / 3	8 / 9
120 h	1 / 3	3 / 3	9 / 9

Bei den Prüfkörpern mit Copal G + V stand das Bakterienwachstum in engem Zusammenhang mit der Bakterienanzahl. Beginn der Versuch mit  $10^2$  Keimen, so kam es nur bei einem von

drei Prüfkörpern nach 120 Stunden zum Wachstum der Bakterien. Bei  $10^4$  und  $10^6$  Keimen / ml waren alle Prüfkörper nach 120 Stunden positiv (Tabelle 7).

## 5.2 Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)

### 5.2.1 Palacos R

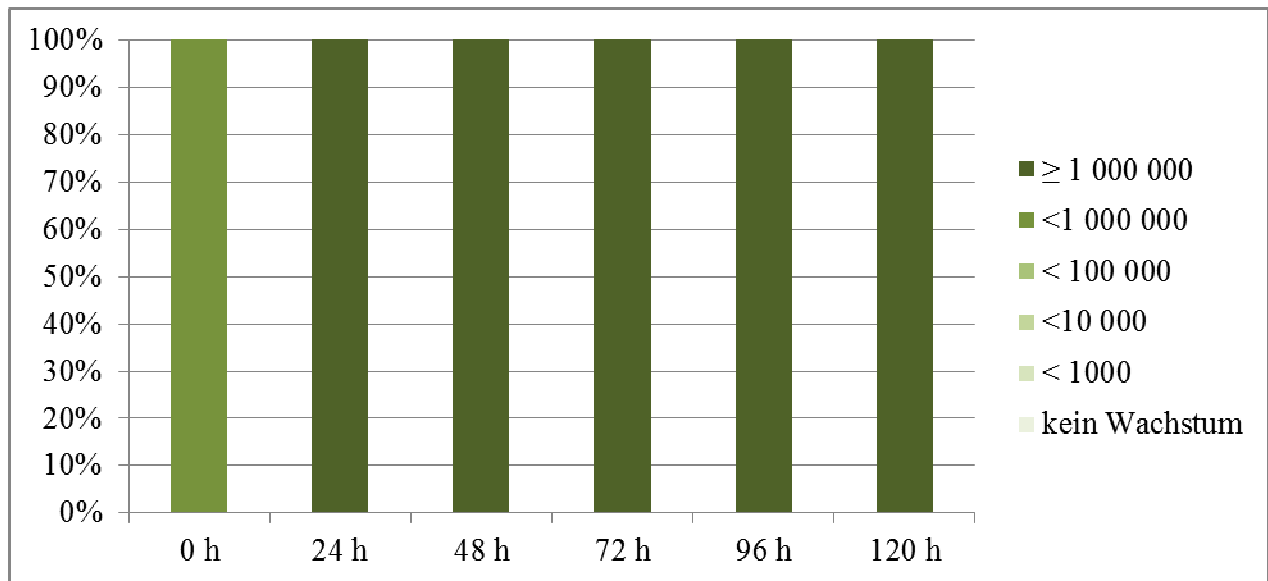


Abbildung 7: Darstellung des Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei dem Referenzmaterial Palacos R konnte man bereits nach 24 Stunden bei allen Proben einen rapiden Anstieg auf über 1.000.000 Keime erkennen. Nach 72 Stunden war in allen Proben (100%) die Keimzahl auf über 1.000.000 Bakterien angestiegen (Abbildung 7).

Tabelle 11: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
24 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
48 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
72 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
96 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
120 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 11).

### 5.2.2 Palacos R+G

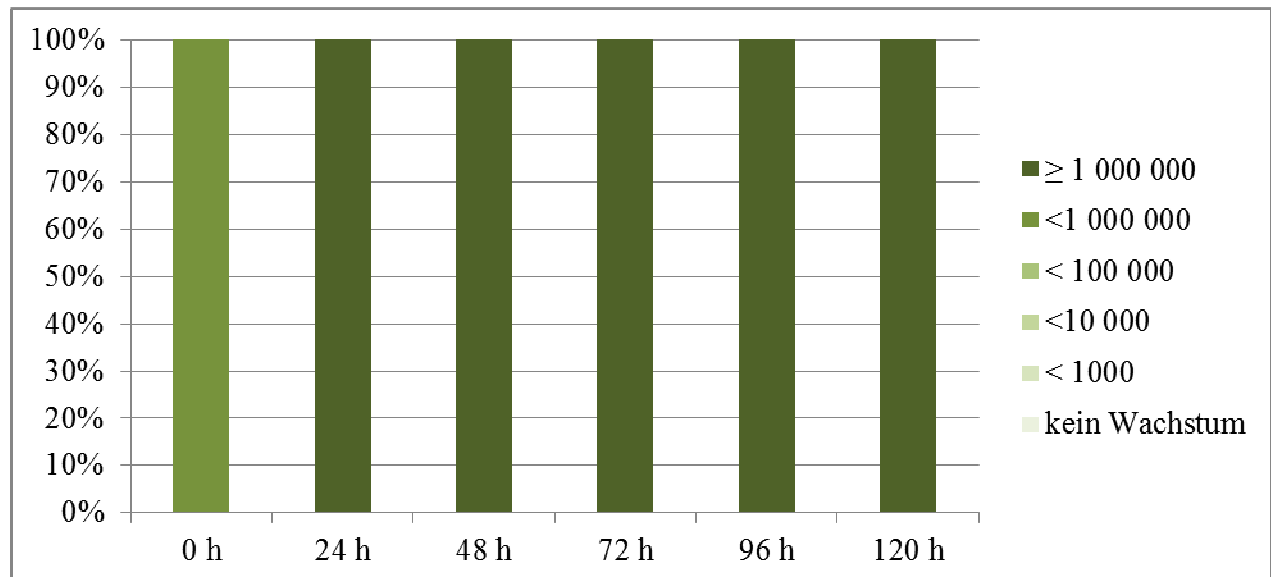


Abbildung 8: Darstellung des Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Zusatz von 0,5 g Gentamicin konnte das Bakterienwachstum nicht verhindern, so dass es bei allen Prüfkörpern 24 Stunden nach Versuchsbeginn zu einem kontinuierlichen Anstieg der Bakterienzahl kam.

Tabelle 12: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
24 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
48 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
72 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
96 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
120 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11

Nach 24 Stunden Wachstumszeit war bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn vorhanden (Tabelle 12).

### 5.2.3 Copal

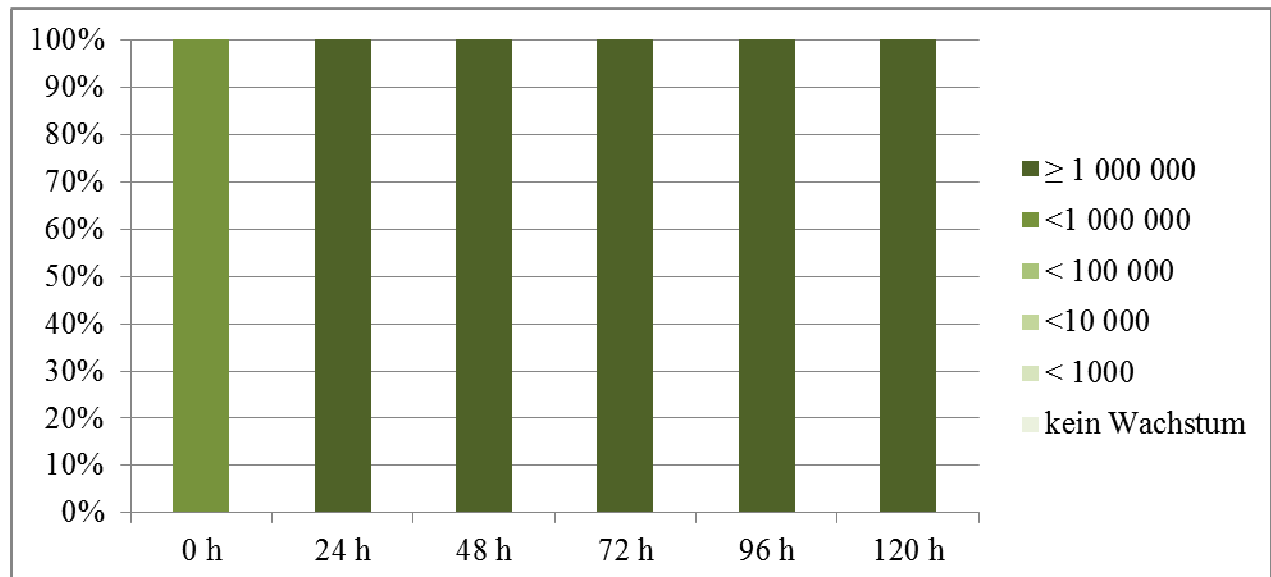


Abbildung 9: Darstellung des Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei dem Zement Copal (1,0 g Gentamicin und 1,0 g Clindamycin) konnte man nach 24 Stunden in allen elf Prüfkörpern mehr als 1.000.000 Keime nachweisen, was kontinuierlich bis zum Versuchsende nach 120 Stunden anhielt.

Tabelle 13: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
24 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
48 h	5 / 5	5 / 5	10 / 11
72 h	5 / 5	5 / 5	9 / 11
96 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
120 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei fast allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien (Tabelle 13). Lediglich zwei von elf Prüfkörpern waren 72 h nach Versuchsbeginn negativ getestet worden.

#### 5.2.4 Copal G+V

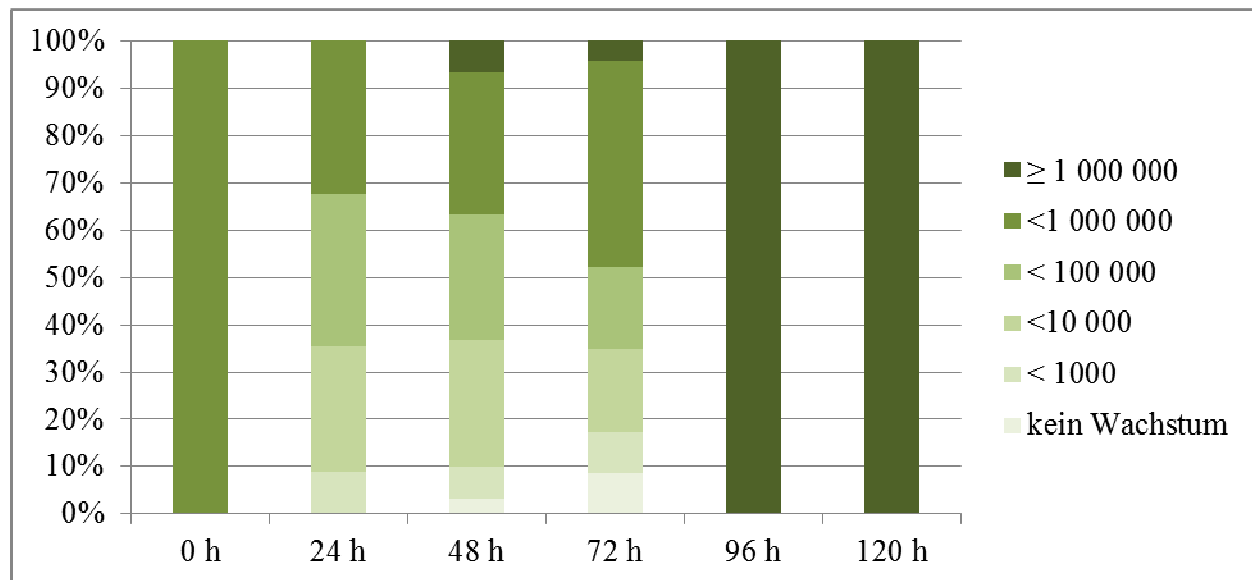


Abbildung 10: Darstellung des Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Zusatz von 0,5 g Gentamicin und 2,0 g Vancomycin bewirkte, dass das Wachstum bei zehn von den elf Prüfkörpern bis 72 Stunden nach Versuchsbeginn unter dem Anfangswert von  $10^6$  Bakterien gehalten werden konnte. Nach 96 Stunden stieg die Anzahl der Bakterien aber bei allen Prüfkörpern  $\geq 10^6$  Keime / ml an.

Tabelle 14: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	5 / 5	5 / 5	11 / 11
24 h	0 / 5	4 / 5	11 / 11
48 h	2 / 5	3 / 5	11 / 11
72 h	2 / 5	5 / 5	11 / 11
96 h	2 / 5	5 / 5	11 / 11
120 h	3 / 5	5 / 5	11 / 11

Das Bakterienwachstum war von der Keimzahl zu Versuchsbeginn abhängig (Tabelle 14). Bei  $10^4$  und  $10^6$  Bakterien / ml zu Beginn waren alle Prüfkörper nach 72 Stunden positiv. Startete man den Versuch mit der geringeren Bakterienanzahl von  $10^2$  / ml, so waren nur drei von fünf Prüfkörpern nach 120 Stunden positiv.

### 5.3 Staphylococcus aureus VA 415/05

#### 5.3.1 Palacos R

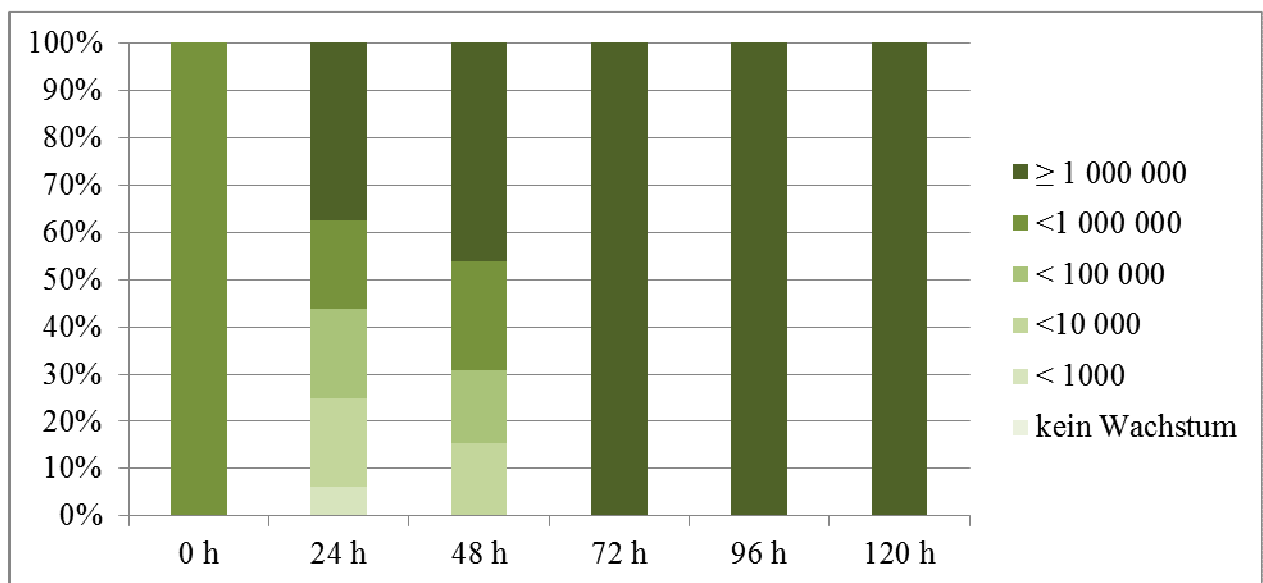


Abbildung 11: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben S. aureus VA 415/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Palacos R wurde bereits nach 24 Stunden bei nahezu 40% der Proben ein rapider Anstieg auf über 1.000.000 beobachtet. Nach 72 Stunden waren alle Keime auf über 1.000.000 Bakterien angestiegen (Abbildung 11).

Tabelle 15: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
48 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
72 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
96 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (siehe Tabelle 15).

### 5.3.2 Palacos R+G

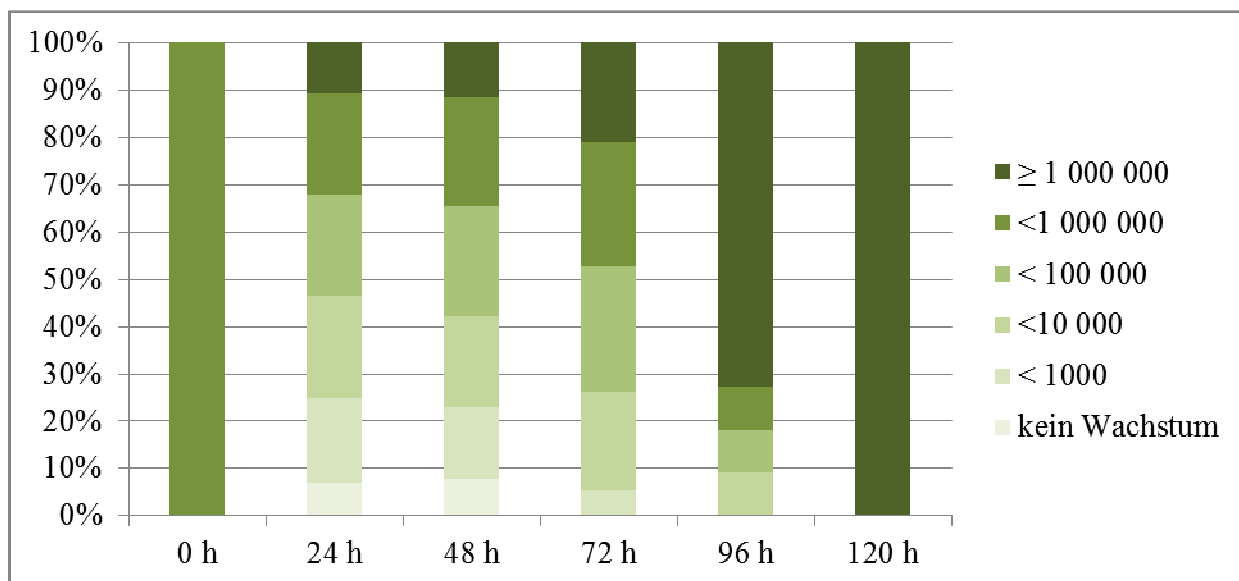


Abbildung 12: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Palacos R + G (0,5 g Gentamicin) wurden in einem Probenröhrchen das Bakterienwachstum bis zu 48 h komplett unterdrückt. Insgesamt blieben die Keimzahlen in sechs von neun Prüfkörpern 48 Stunden lang unter dem Anfangswert von  $10^6$  Keimen. Jedoch konnte man nach 120 Stunden bei allen Prüfkörpern weit über  $10^6$  Keime nachweisen (Abbildung 12).



Tabelle 16: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	3 / 3	7 / 9
48 h	0 / 3	1 / 3	7 / 9
72 h	0 / 3	1 / 3	9 / 9
96 h	0 / 3	2 / 3	9 / 9
120 h	0 / 3	2 / 3	9 / 9

Tabelle 16 verdeutlicht, dass der Gentamicin-Zusatz eine antimikrobielle Wirkung in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl aufwies. Bei nur  $10^2$  Keimen / ml zu Versuchsbeginn wurde bis zu 120 Stunden danach kein Bakterienwachstum festgestellt. Wurde mit  $10^4$  Bakterien / ml begonnen, erwies sich nur einer von drei Prüfkörpern nach 120 Stunden als negativ (Tabelle 16).

### 5.3.3 Copal

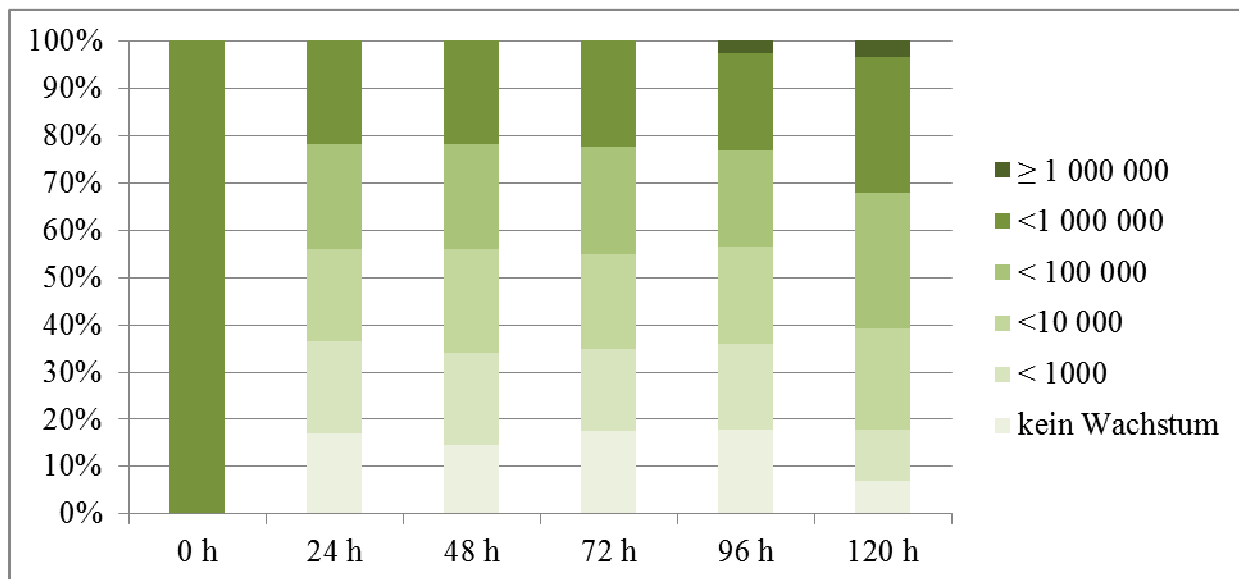


Abbildung 13: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Copal blieben sieben von neun Prüfkörpern bis 96 Stunden nach Versuchsbeginn negativ (Abbildung 13). Nach 120 Stunden waren noch zwei von neun Prüfkörpern negativ.

Tabelle 17: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	0 / 3	2 / 9
48 h	0 / 3	0 / 3	3 / 9
72 h	0 / 3	0 / 3	2 / 9
96 h	0 / 3	0 / 3	2 / 9
120 h	2 / 3	1 / 3	7 / 9

Bei  $10^2$  und  $10^4$  Keimen zu Versuchsbeginn waren alle Prüfkörper nach 96 Stunden noch negativ (Tabelle 17). Jedoch waren nach 120 Stunden unabhängig von Keimzahl zu Versuchsbeginn ein großer Teil der Prüfkörper positiv.

### 5.3.4 Copal G+V

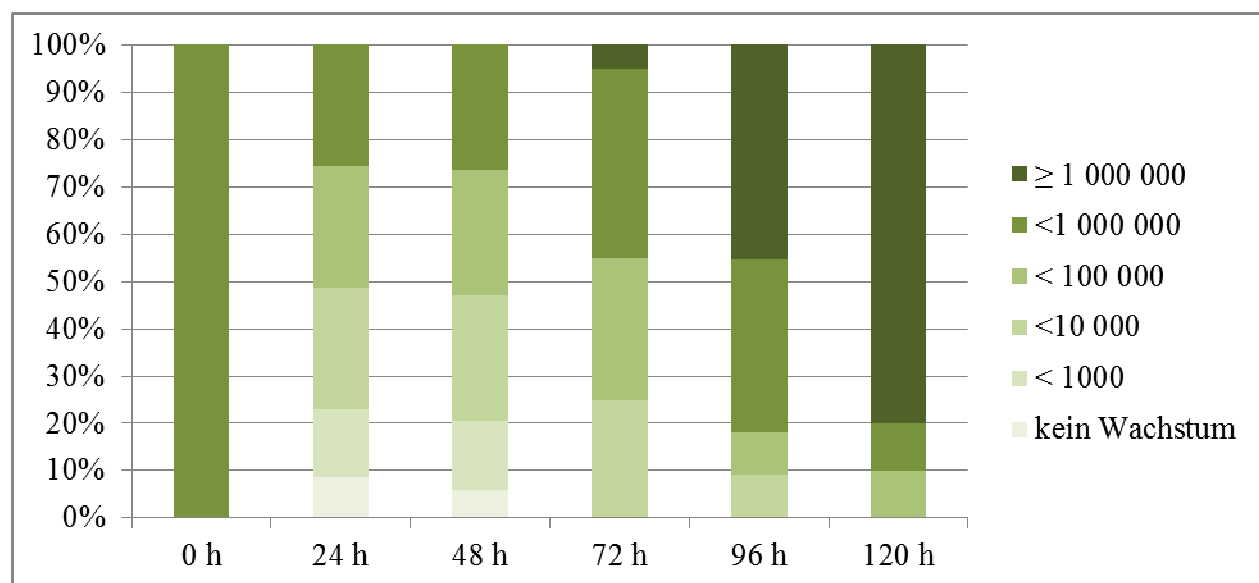


Abbildung 14: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der antibiotische Zusatz von Gentamicin entspricht dem von Palacos R + G. Jedoch wurden dem Copal G + V noch 2,0 g Vancomycin zugesetzt. Trotzdem war nach 120 Stunden die Keimzahl in acht von neun Fällen auf über  $10^6$  Bakterien angestiegen (Abbildung 14).

Tabelle 18: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 415/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	0 / 3	6 / 9
48 h	0 / 3	0 / 3	7 / 9
72 h	0 / 3	1 / 3	9 / 9
96 h	1 / 3	2 / 3	9 / 9
120 h	1 / 3	3 / 3	9 / 9

Bei einer Keimzahl von  $10^6$  und  $10^4$  Keimen zu Versuchsbeginn waren alle Prüfkörper nach 120 Stunden positiv (Tabelle 18). Nur bei einer Reduktion der Bakterienzahl zu  $10^2$  / ml zu Versuchsbeginn blieben zwei von drei Prüfkörpern bis zu 120 h danach negativ.

## 5.4 Staphylococcus aureus VA 657/05

### 5.4.1 Palacos R

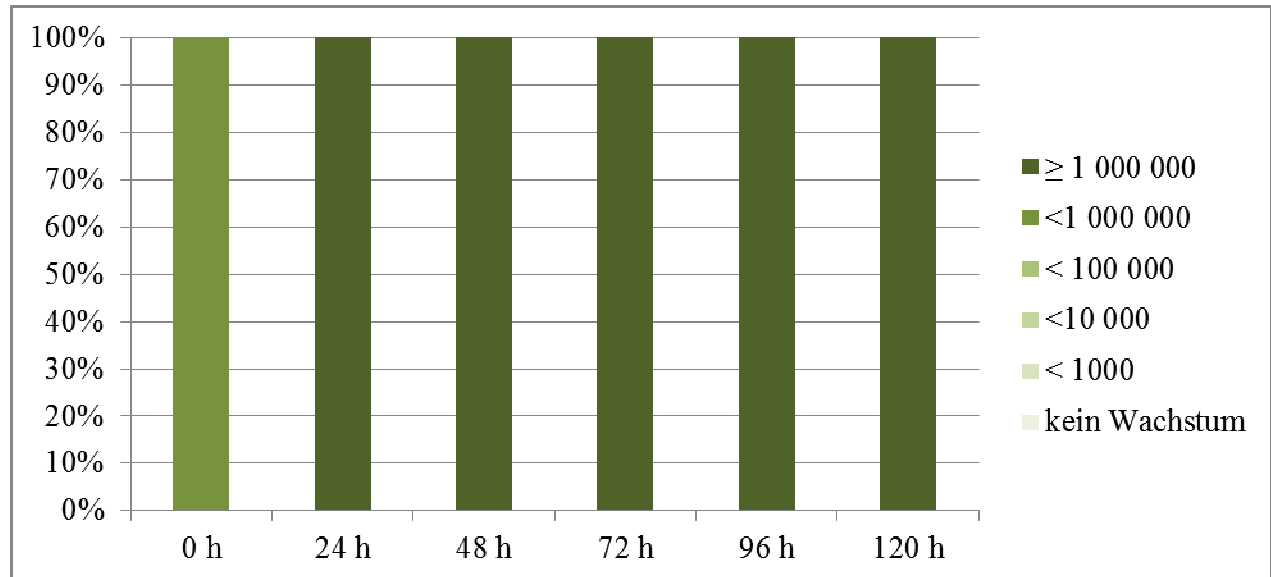


Abbildung 15: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Wie auch bei den anderen geprüften Bakterienstämmen war bereits nach 24 Stunden bei über 50% der Keime ein rapider Anstieg auf über 1.000.000 Keime erkennen. Nach 72 Stunden waren alle Keime (100%) auf über 1.000.000 Bakterien angestiegen (Abbildung 15).

Tabelle 19: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
48 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
72 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
96 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 19).

### 5.4.2 Palacos R+G

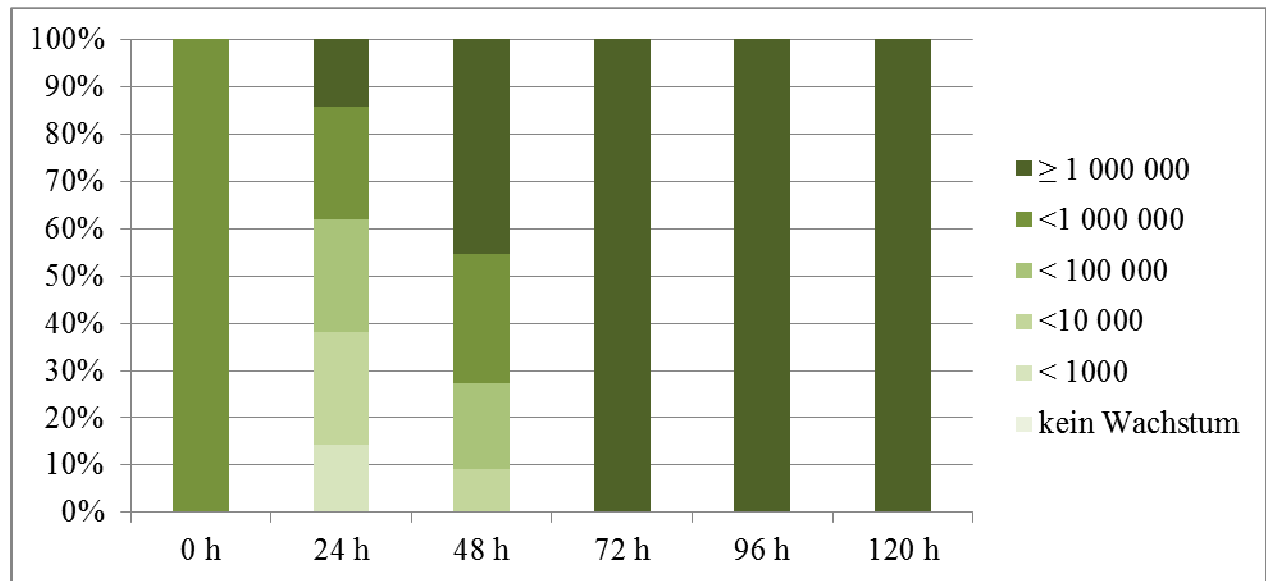


Abbildung 16: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Zusatz von 0,5 g Gentamicin konnte das Bakterienwachstum nicht stoppen. Nach 72 Stunden wiesen alle acht Prüfkörper Keimzahlen  $\geq 10^6$  / ml auf (Abbildung 16).

Tabelle 20: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	2 / 3	9 / 9
48 h	0 / 3	2 / 3	9 / 9
72 h	0 / 3	3 / 3	9 / 9
96 h	0 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	0 / 3	3 / 3	9 / 9

Tabelle 20 verdeutlicht, dass eine Anfangskeimzahl von  $10^2$  Bakterien / ml zu Versuchsbeginn stetig durch den antibiotikahaltigen Zement unterdrückt wurde. Bei einer höheren Bakterienzahl zu Versuchsbeginn waren alle Prüfkörper nach 120 Stunden positiv.

### 5.4.3 Copal

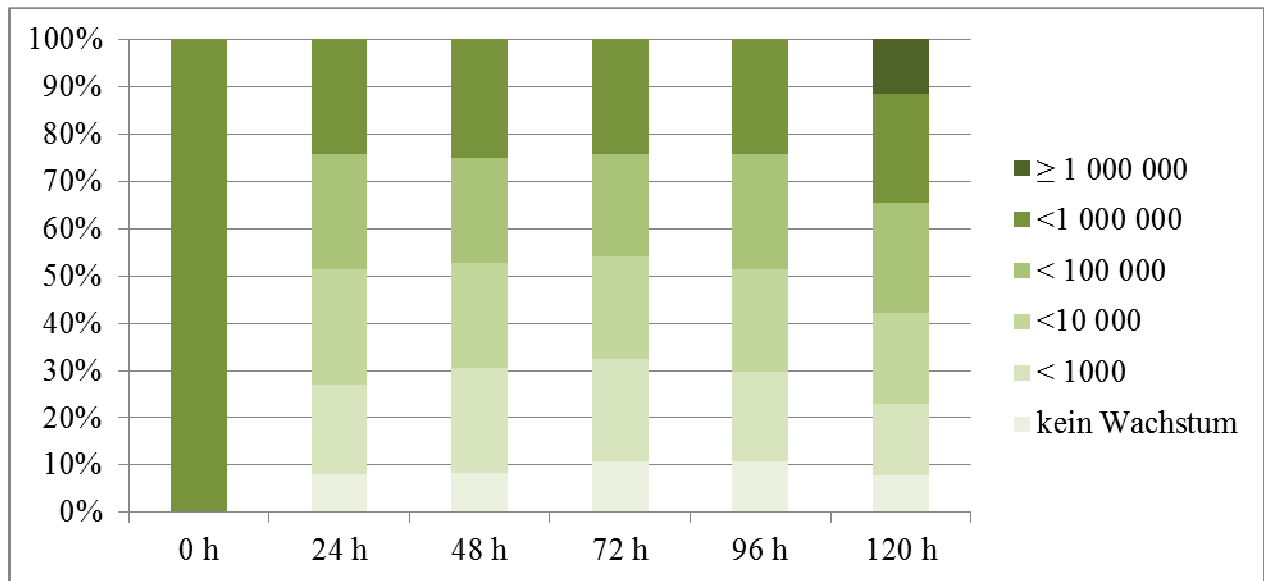


Abbildung 17: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei dem Zement Copal blieben die Bakterienzahlen bis 96 Stunden nach Versuchsbeginn unter dem Anfangswert von  $10^6$  Keimen (Abbildung 17). Nach 120 Stunden waren zwei von neun Prüfkörpern immer noch ohne Bakterienwachstum und drei Prüfkörper hatten den Anfangswert von  $10^6$  Bakterien überstiegen.

Tabelle 21: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 657/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	0 / 3	6 / 9
48 h	0 / 3	0 / 3	6 / 9
72 h	0 / 3	0 / 3	5 / 9
96 h	0 / 3	0 / 3	5 / 9
120 h	1 / 3	0 / 3	7 / 9

Bei den Anfangszahlen von  $10^2$  und  $10^4$  Keimen / ml blieben fünf von sechs Prüfkörpern ohne Wachstum (Tabelle 21). Wurde der Versuch mit  $10^6$  Bakterien / ml begonnen, so waren sieben von neun Prüfkörpern positiv, d.h. nur zwei von den neun Prüfkörpern wiesen kein Wachstum auf.

#### 5.4.4 Copal G+V

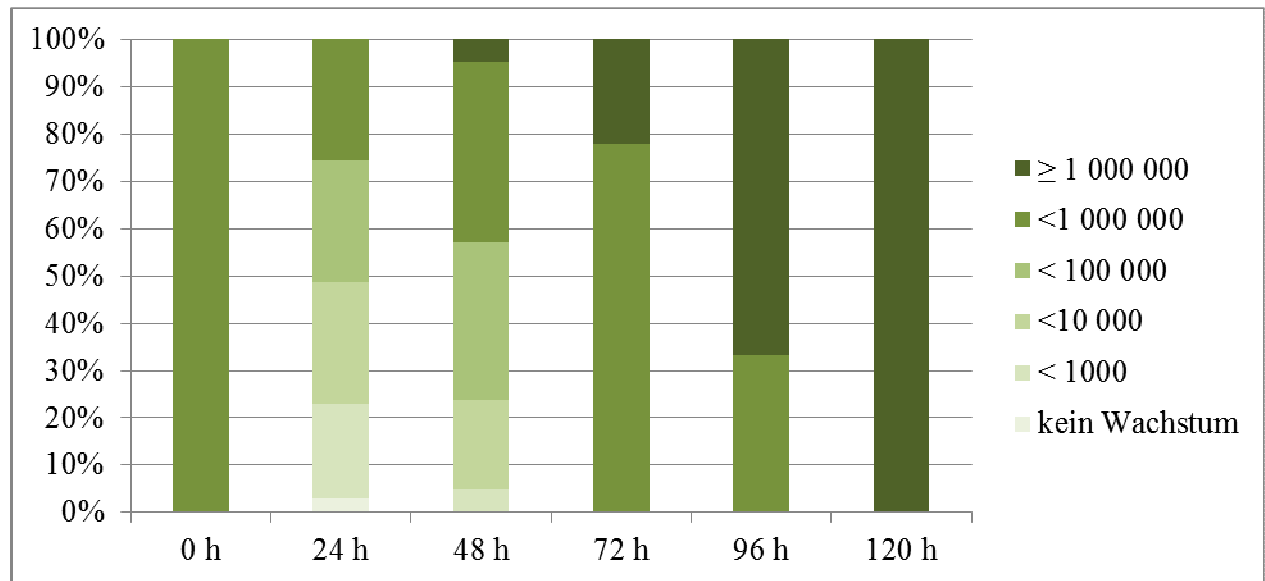


Abbildung 18: Darstellung des Keimwachstums von neun Proben S. aureus VA 657/05 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Vancomycin – Zusatz von 2,0g bewirkte keinen Wachstumsstopp bei den Bakterien. Nach 72 Stunden waren in sieben von neun Prüfkörpern die Zahlen knapp unter dem Anfangswert von  $10^6$  Bakterien, nach 96 Stunden wiesen alle neun Prüfkörper Keimzahlen von  $\geq 10^6$  / ml auf (Abbildung 18).

Tabelle 22: Anzahl der positiven Prüfkörper mit S. aureus VA 657/05 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
24 h	0 / 3	1 / 3	8 / 9
48 h	0 / 3	2 / 3	9 / 9
72 h	0 / 3	1 / 3	9 / 9
96 h	3 / 3	3 / 3	9 / 9
120 h	2 / 3	3 / 3	9 / 9

Unabhängig von der Bakterienanzahl zu Versuchsbeginn konnte in 14 von 15 Prüfkörpern ein Wachstum nachgewiesen werden (Tabelle 22).

## 5.5 Staphylococcus aureus VA 1574/05 (MRSA)

### 5.5.1 Palacos R

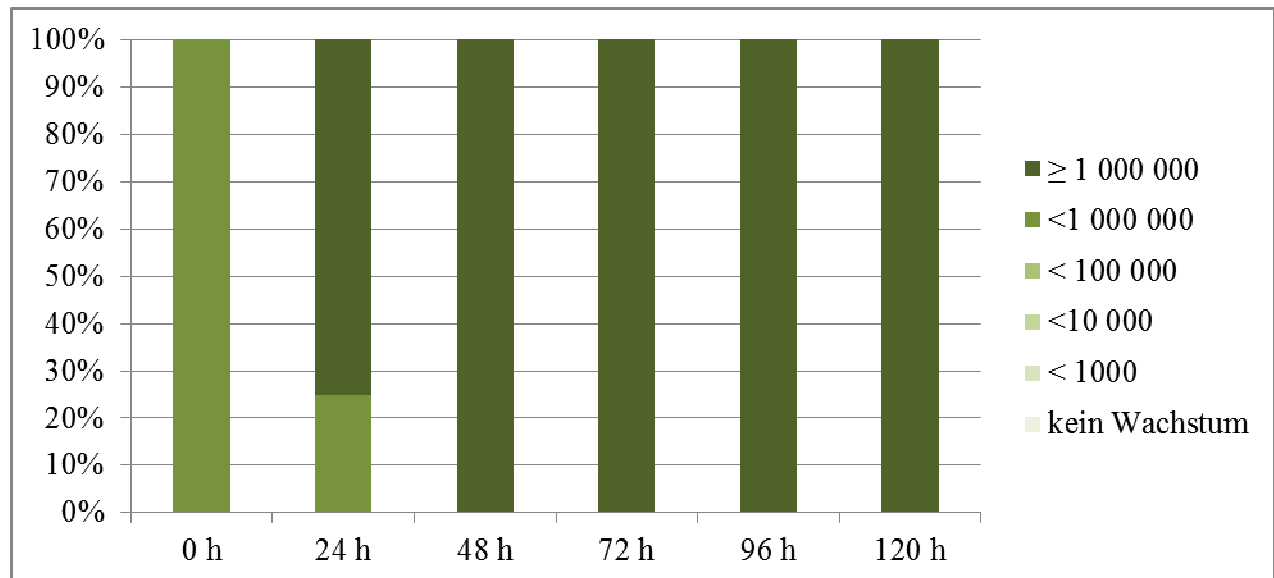


Abbildung 19: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben S. aureus VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Palacos R konnte man bereits nach 24 Stunden bei über 70% der Keime einen rapiden Anstieg auf über 1.000.000 Keime erkennen. Nach 72 Stunden waren alle Keime (100%) auf über 1.000.000 Bakterien angestiegen (Abbildung 19).

Tabelle 23: Anzahl der positiven Prüfkörper mit S. aureus VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
24 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
48 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
72 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
96 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
120 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 23).



### 5.5.2 Palacos R+G

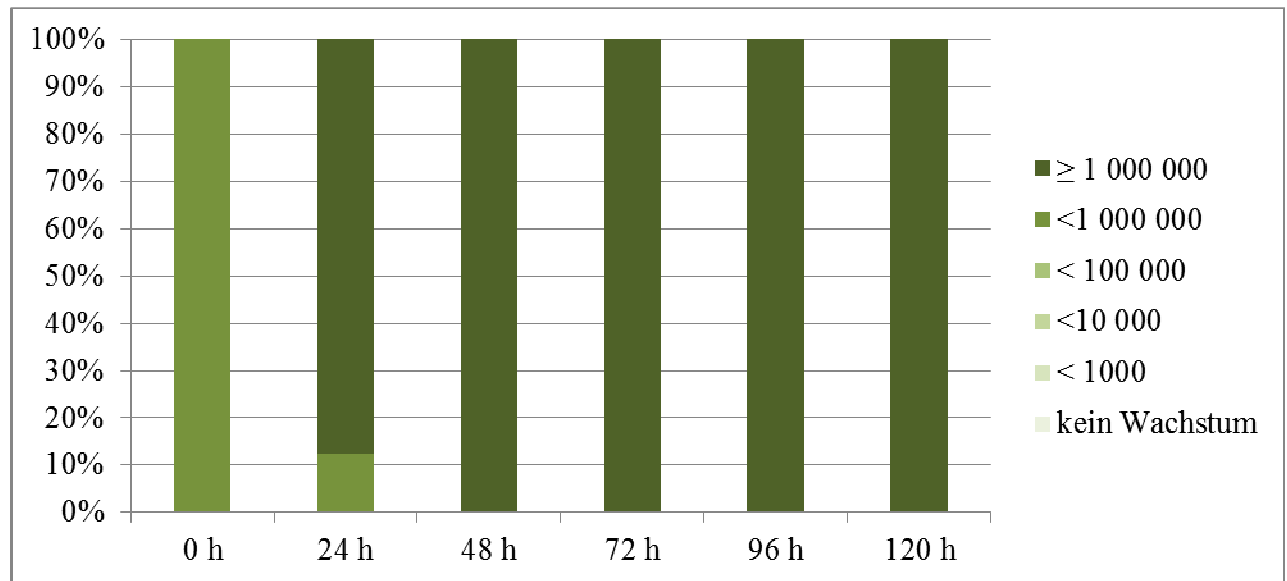


Abbildung 20: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bereits nach 24 Stunden betrug die Bakterienzahl bei sechs von acht Prüfkörpern über  $10^6$  / ml (Abbildung 20). Nach weiteren 24 Stunden waren alle Bakterien auf eine Keimzahl größer als  $10^6$  / ml angestiegen.

Tabelle 24: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
48 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
72 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
96 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
120 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 24).

### 5.5.3 Copal

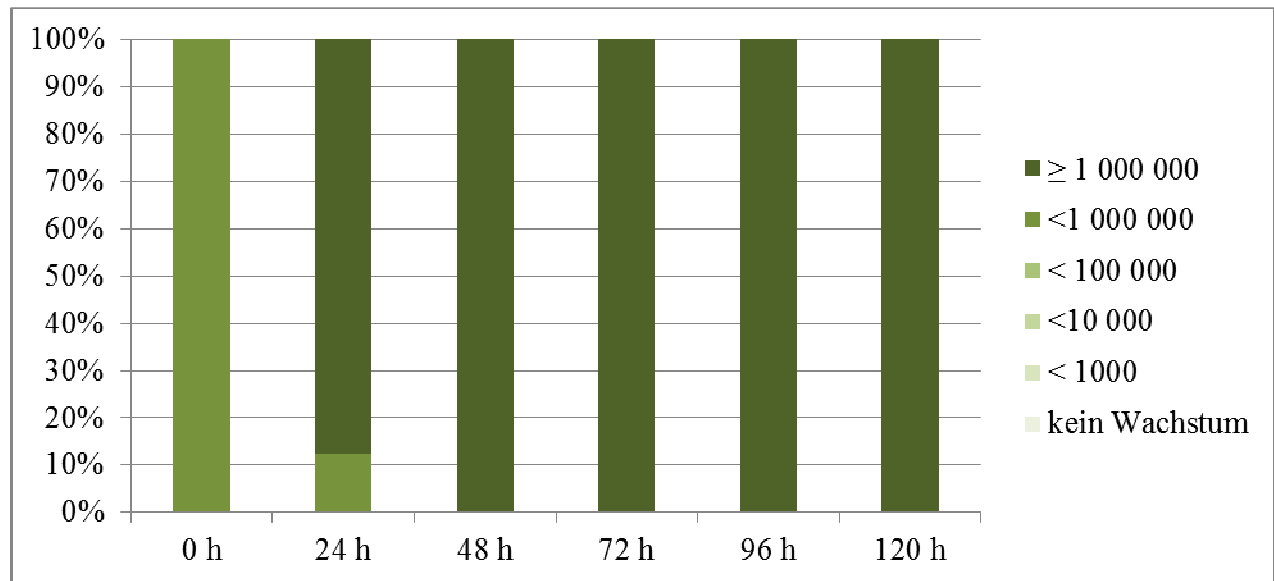


Abbildung 21: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Auch bei dem Zement Copal waren alle Bakterien nach 48 Stunden auf über  $10^6$  Keime gewachsen (Abbildung 21).

Tabelle 25: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
48 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
72 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
96 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
120 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 25).

### 5.5.4 Copal G+V

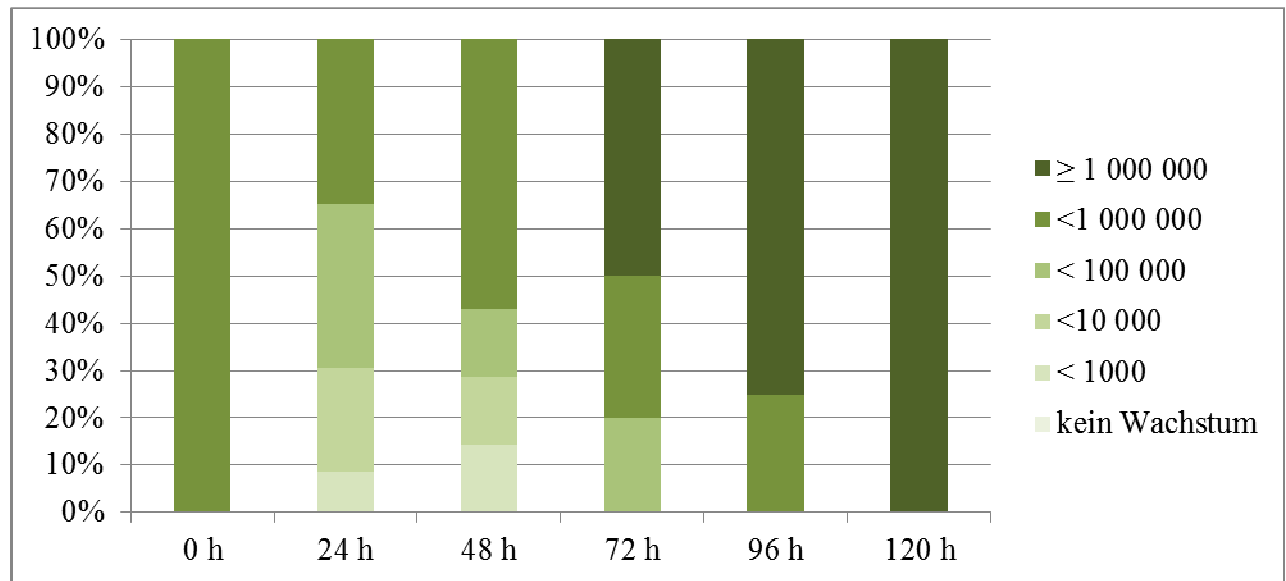


Abbildung 22: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben S. aureus VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Vancomycin-Zusatz von 2,0 g zeigte eine positive Wirkung beim MRSA - Stamm im Sinne der Bekämpfung des Bakterienwachstumes. Nach 24 Stunden wiesen keine der Prüfkörper eine Keimzahl von über 100.000 Bakterien auf (Abbildung 22). Trotzdem wurde in keinem von acht Proben kein Wachstum festgestellt.

Tabelle 26: Anzahl der positiven Prüfkörper mit S. aureus VA 1574/05 (MRSA) in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	2 / 3	1 / 3	8 / 8
48 h	3 / 3	0 / 3	8 / 8
72 h	3 / 3	1 / 3	8 / 8
96 h	3 / 3	2 / 3	8 / 8
120 h	3 / 3	2 / 3	8 / 8

Nach 48 Stunden waren alle Prüfkörper mit Anfangszahlen von  $10^2$  und  $10^6$  Keimen / ml positiv (Tabelle 26). Bei einer Keimzahl von  $10^4$  Bakterien / ml zu Versuchsbeginn blieb einer von drei Prüfkörpern bis zum Versuchsende negativ.

## 5.6 Staphylococcus epidermidis VA 24027/04

### 5.6.1 Palacos R

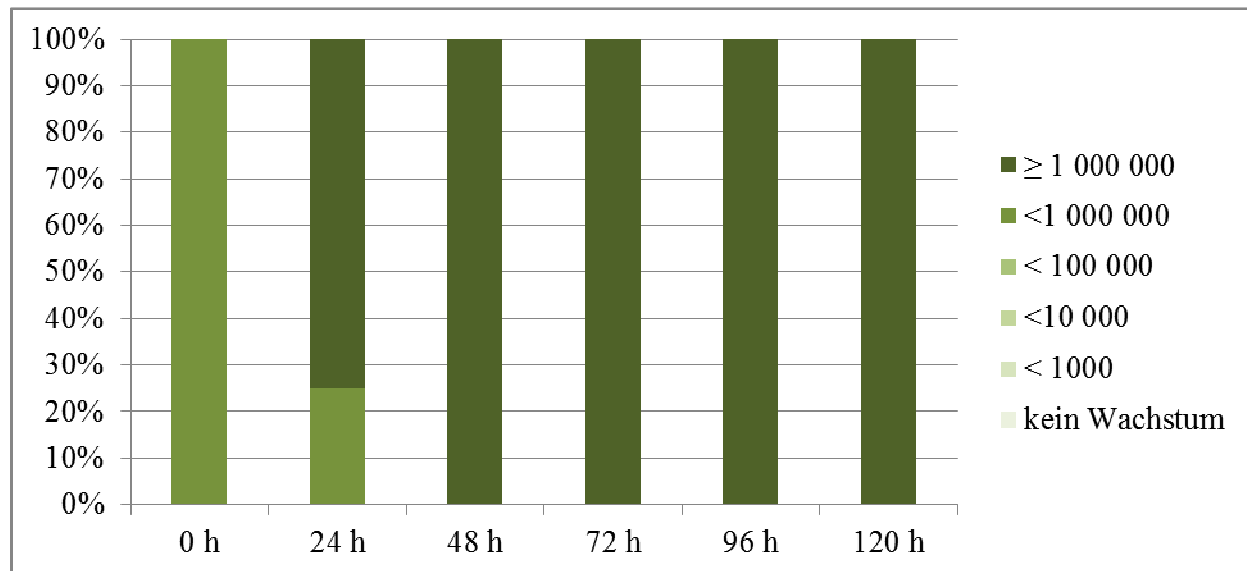


Abbildung 23: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Palacos R wurde 24 Stunden nach Beginn bei über 70 % der Proben Keimzahlen von  $\geq 1.000.000$  Keime / ml festgestellt. Nach 72 Stunden betrug in allen Proben die Keimzahl über 1.000.000 Bakterien / ml (Abbildung 23).

Tabelle 27: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
24 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
48 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
72 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
96 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8
120 h	2 / 2	2 / 2	8 / 8

Nach 24 Stunden Wachstumszeit erfolgte bei allen Prüfkörpern ein positiver Nachweis von Bakterien unabhängig von der Keimanzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 27).

### 5.6.2 Palacos R+G

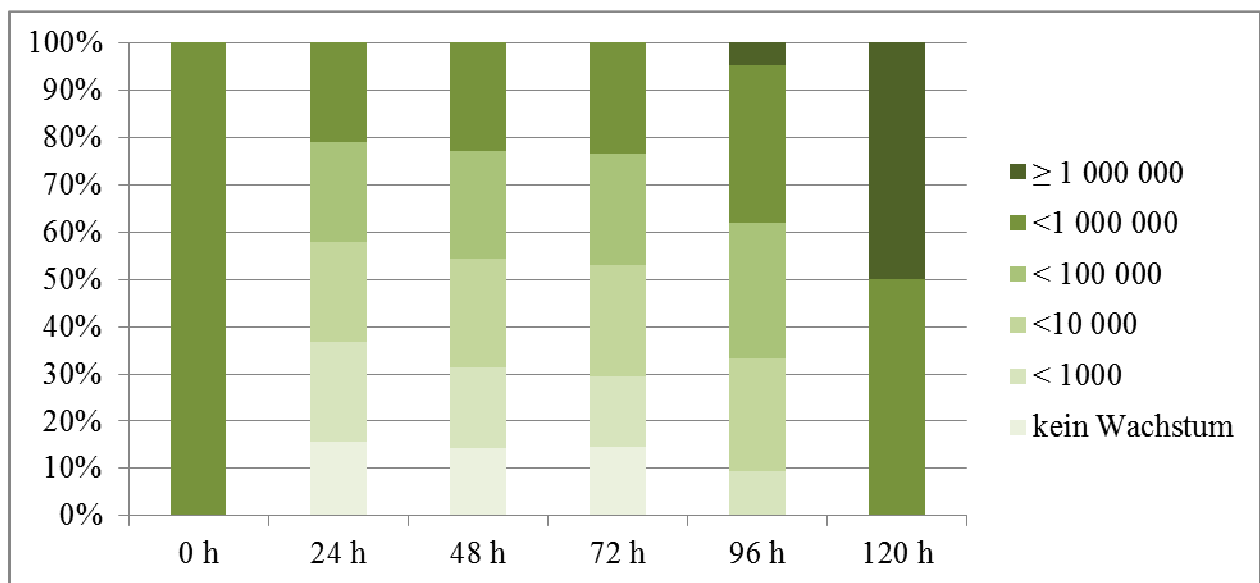


Abbildung 24: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei Palacos R + G konnte der Gentamicin - Zusatz von 0,5 g das Bakterienwachstum bei fünf von acht Prüfkörpern bis 72 Stunden nach Versuchsbeginn völlig bekämpfen (Abbildung 24). Nur die Hälfte der Prüfkörper überschritt nach 120 Stunden den Anfangswert von  $10^6$  Bakterien / ml.

Tabelle 28: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	0 / 3	0 / 3	2 / 8
48 h	2 / 3	2 / 3	3 / 8
72 h	2 / 3	3 / 3	3 / 8
96 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
120 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8

Tabelle 28 zeigt, dass nach 72 Stunden nur acht von 14 Prüfkörpern positiv waren. Aber bereits 24 Stunden später waren alle Prüfkörper positiv, unabhängig von der Keimzahl zu Versuchsbeginn (Tabelle 28).

### 5.6.3 Copal

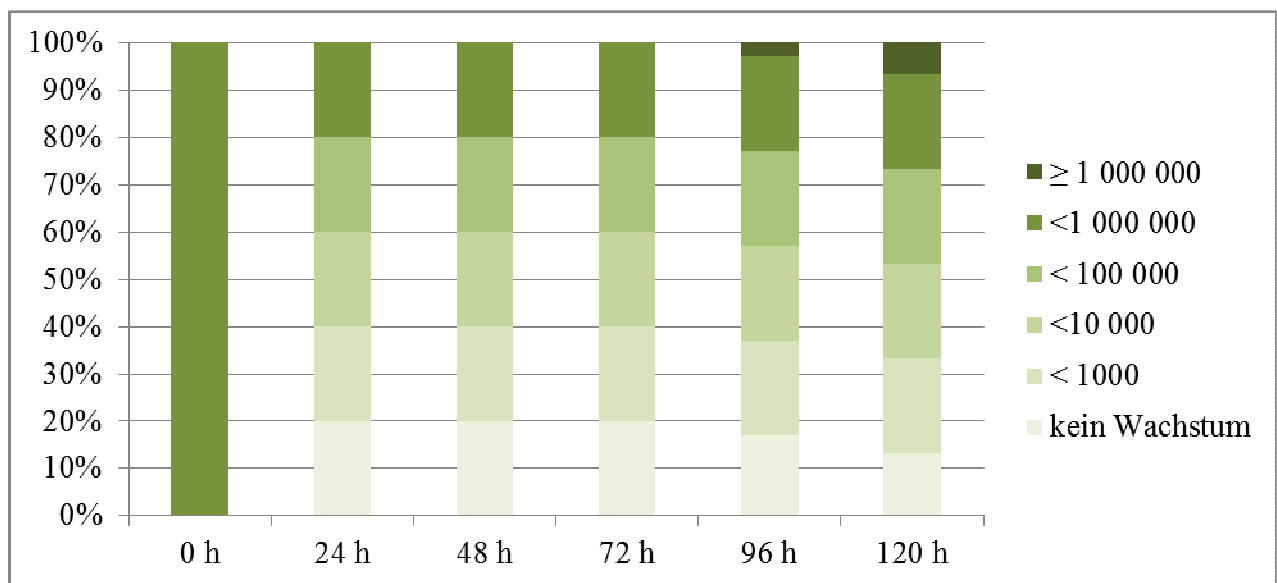


Abbildung 25: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Der Zement Copal enthielt zu 1,0 g Gentamicin und zu 1,0 g Clindamycin, was zur Folge hatte, dass bei allen Prüfkörpern 72 Stunden nach Versuchsbeginn kein Wachstum der Bakterien auftrat. Die Hälfte der Prüfkörper wies auch nach 120 Stunden noch kein Wachstum auf (Abbildung 25).

Tabelle 29: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	0 / 3	0 / 3	0 / 8
48 h	0 / 3	0 / 3	0 / 8
72 h	1 / 3	1 / 3	0 / 8
96 h	2 / 3	3 / 3	2 / 8
120 h	3 / 3	3 / 3	4 / 8

Bei einer Keimzahl von  $10^6$  Bakterien zu Versuchsbeginn waren vier von acht Prüfkörpern nach 120 Stunden positiv (Tabelle 29). Bei Versuchsbeginn mit geringeren Keimzahlen waren alle Prüfkörper nach 120 Stunden positiv.

#### 5.6.4 Copal G+V

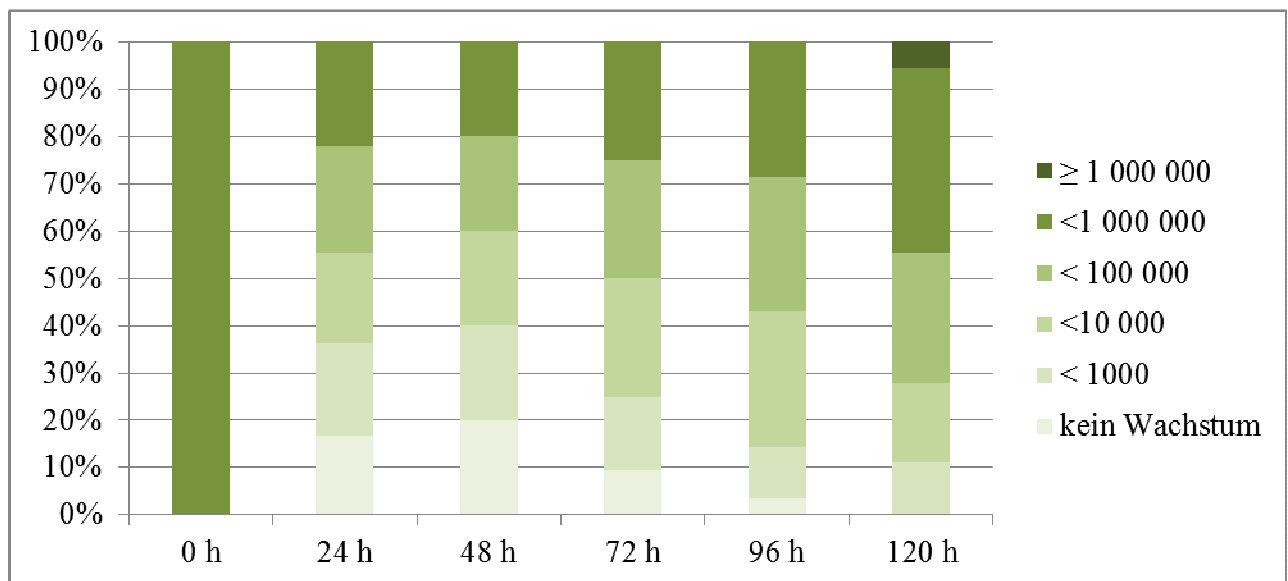


Abbildung 26: Darstellung des Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Zeit in Stunden

Bei dem Copal G + V Zement bewirkte, dass bei sechs von acht Prüfkörpern 24 Stunden nach Versuchsbeginn kein Wachstum auftrat. Weitere 24 Stunden später waren alle acht Proben negativ (Abbildung 26). Nach 120 Stunden bewegten sich die Bakterienzahlen bei sieben von acht Prüfkörpern unter dem Anfangswert von  $10^6$  Keimen.

Tabelle 30: Anzahl der positiven Prüfkörper mit *S. epidermidis* VA 24027/04 in Abhängigkeit von der Anfangskeimzahl und Zeit

	$10^2$	$10^4$	$10^6$
0 h	3 / 3	3 / 3	8 / 8
24 h	0 / 3	0 / 3	2 / 8
48 h	0 / 3	0 / 3	0 / 8
72 h	0 / 3	0 / 3	5 / 8
96 h	1 / 3	0 / 3	7 / 8
120 h	2 / 3	1 / 3	8 / 8

Unabhängig von der Bakterienanzahl zu Versuchsbeginn war 48 Stunden nach Versuchsbeginn kein Prüfkörper positiv (Tabelle 30). Bei  $10^4$  Bakterien / ml zu Versuchsbeginn war erst nach 120 Stunden ein Prüfkörper positiv, bei  $10^2$  Bakterien / ml nach 96 Stunden.



## 6 Diskussion

### 6.1 Methodik

In der hier vorliegenden Arbeit wurde von einer maximalen Wundsekretbildung von 1000 ml in den ersten 24 Stunden nach der Operation, in den folgenden 24 Stunden von 500 ml und in den nachfolgenden 24 Stunden von 250 ml ausgegangen. In den nächsten 2 Tagen danach wird eine Wundsekretbildung von 50 ml pro 24 Stunden angenommen. Daraus ergibt sich der Quotient Wundsekretvolumen / Zementoberfläche (laut Hersteller Heraeus Medical GmbH 377 cm<sup>3</sup>). Es wird davon ausgegangen, dass eine Quadratcentimeteroberfläche Zement innerhalb von 24 Stunden von 8 ml Blut umströmt wird. Der Volumenstrom wird als zeitlich konstant betrachtet (Tabelle 31).

Tabelle 31: Wundsekretvolumen, Blutvolumen und Gesamtvolumen in Abhängigkeit von der Zeit nach der Implantation

Zeit nach der Implantation	Volumen Wundsekret pro Zementoberfläche [ml/cm <sup>2</sup> ]	Blutvolumen pro Zementoberfläche [ml/cm <sup>2</sup> ]	Gesamtvolumen [ml/cm <sup>2</sup> ]
0 - 24 h	2,65	8,0	10,65
24 - 48 h	1,33	8,0	9,33
48 - 72 h	0,66	8,0	8,66
72 - 120 h	0,13	8,0	8,13

Alle Staphylokokken sind Katalase - positiv. Das Vorhandensein einer Hämolyse auf Blutagar und die typische goldgelbe Koloniefarbe sind ein Hinweis für das Vorliegen von S.aureus.

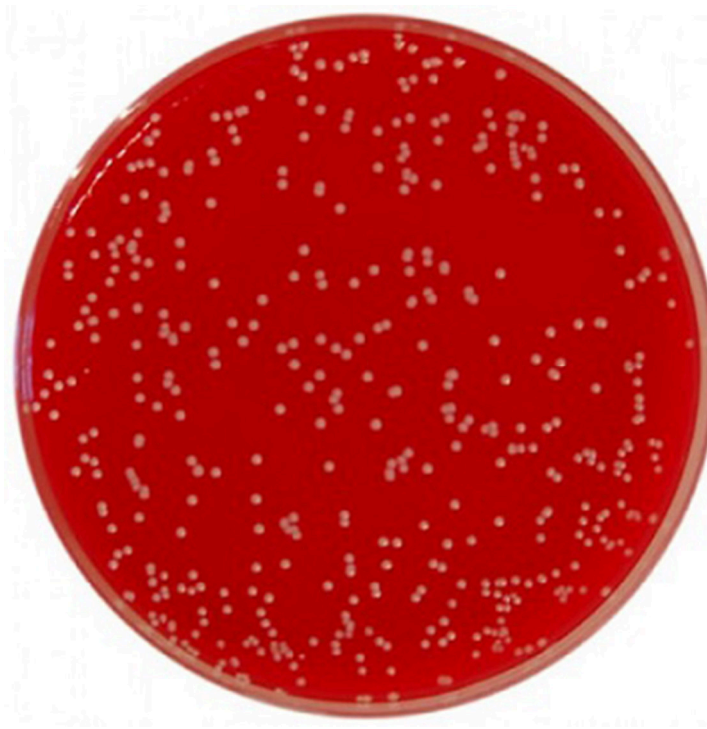


Abbildung 27: *S. aureus* auf Columbia - Agarplatte

In der hier vorliegenden Studie wurden *S. aureus* und *S. epidermidis* getrennt voneinander ausplattiert. Möchte man *S. aureus* von dem Koagulase - negativem *S. epidermidis* unterscheiden, ist der Nachweis der Koagulase im Röhrchentest oder der Nachweis des Clumpingfaktors notwendig. Der jeweilige Virulenzfaktor würde durch Gelatinisierung (Koagulase positiv) oder Verklumpung auf dem Objektträger (Clumpingfaktor) ersichtlich.

## 6.2 Keimspezifische Wirkung der Antibiotika

In der hier durchgeführten Studie wurde die antimikrobielle Wirksamkeit der Knochenzemente Palacos R+G, Copal und Copal G+ V auf 3 Stämme *S. aureus* (ATCC 29213, VA 415/05, VA 657/05), auf 2 Stämme *S. aureus* / MRSA (ATCC 43300, VA 1574/05) und einen Stamm *S. epidermidis* (VA 24027/04) getestet.

Für die 3 *S. aureus* Stämme kam es zu 45 auswertbaren Ergebnissen, für die 2 MRSA Stämme zu 33 Ergebnissen und für die *S. epidermidis* Stämme zu 14 Ergebnissen. Die Anzahl der Ergebnisse ist zu gering, um sie statistisch zu betrachten / auszuwerten.

In der durchgeführten Studie war die maximale Antibiotikamenge 2,5 g, die 40 g Zement zugesetzt wurden. Um eine Anwendung empfehlen zu können, ist es jedoch auch notwendig

die Effekte kleinerer Mengen an Antibiotika zu untersuchen. Die kleinste Menge an zugesetzten Antibiotika befand sich in Palacos R + G (0,5 g Gentamicin). Die besseren Ergebnisse hinsichtlich der antimikrobiellen Wirksamkeit sind generell mit der doppelten Menge an Gentamicin in Copal (1,0 g Gentamicin + 1,0g Clindamycin) erzielt worden. Die bakterielle Hemmung durch Gentamicin / Clindamycin Zemente wurde bereits in anderen in-vitro Studien bestätigt (Konig et al. 2001). Dass es trotzdem zu einem geringen Bakterienwachstum kam, könnte daran liegen, dass *S. aureus* trotz Gentamicin beladenen Knochenzementen fähig ist einen Biofilm zu produzieren (van de Belt et al. 2001). Außerdem können auch Subpopulationen von *S. aureus* gebildet werden. Sie sind gekennzeichnet durch langsames Wachstum, atypischer Koloniemorphologie und ungewöhnlichem Profil. Die Subpopulationen sind resistent gegen viele Antibiotika (Proctor et al. 1998), weil ein mangelhafter Elektronentransport stattfindet und dadurch die Aufnahme positiv geladener antimikrobieller Substanzen reduziert ist (Proctor und Peters 1998).

Für die Behandlung von Infektionen verursacht durch *S. aureus* oder *S. epidermidis* wird eine Behandlung mit Gentamicin empfohlen, ein Aminoglykosid dessen Wirkungsweise auf der Hemmung der Proteinbiosynthese der Bakterien beruht. Die Anwendung von Gentamicin erfolgt meist lokal, da es sonst zu erheblichen Nebenwirkungen an Niere und Innenohr kommen kann.

Für die Bekämpfung von MRSA und *S. epidermidis* wurden die besten Ergebnisse hinsichtlich einer Bakterieneindämmung mit der Kombination aus Gentamicin (0,5 g) und Vancomycin (2,0 g) pro 40 g Zement erzielt. Dieses Ergebnis deckt sich auch mit Studien in der Literatur (Anagnostakos et al. 2005).

Unter dem Methicillin - resistenten *Staphylokokkus aureus* (MRSA) versteht man im engeren Sinne *S. aureus* Stämme, die gegen alle derzeit bekannten  $\beta$  - Lactam - Antibiotika (z.B. Penicillin) resistent sind. Eine positive Therapie ist z.B. mit Vancomycin zu erzielen, ein Glykopeptid - Antibiotikum, welches die Quervernetzung der Zellwand grampositiver Bakterien verhindert. Die Bakterien haben einen hohen osmotischen Druck, durch die fehlende Quervernetzung in der Zellwand können sie dem Antibiotikum nicht standhalten und platzen.

Wichtig bei der Auswahl des Antibiotikums sind die bakterielle Hemmung durch direkten Kontakt des Antibiotikums zum Knochenzement und die bakterielle Hemmung durch Diffusion des Antibiotikums aus dem Knochenzement (Heard und Oloff 1989).

### 6.3 Zementspezifische Auswertung

In dieser Arbeit wurden unterschiedliche Antibiotika – enthaltende Knochenzemente von der Firma Heraeus Medical GmbH zur Verfügung gestellt und in die Studie einbezogen. Es handelt sich um folgende PMMA- Knochenzemente: Palacos R + G, Copal, Copal G + V und Palacos R als Referenzmaterial.

Knochenzemente auf Basis von Polymethylmetacrylat (PMMA) bleiben ein wichtiges Material für die Verankerung von künstlichen Gelenken. Polymere auf Basis von PMMA wurden ursprünglich für die zahnärztliche Chirurgie entwickelt. Nun werden sie erfolgreich seit über 40 Jahren in der Knochenchirurgie verwendet (Breusch und Kuhn 2003). Laborversuche und klinische Untersuchungen haben die verschiedenen Ansprüche, ursprünglich von Buchholz und Engelbrecht (1970) beschrieben, dass Antibiotika - beladene Acrylzemente das Antibiotikum in die Umgebung in nutzbaren Konzentrationen freisetzt, bestätigt (Elson et al. 1977). PMMA - antibiotische Knochenzemente inhibierten das Wachstum von Bakterien für 7 bis 10 Tage, der kritische Zeitraum für Infektionen nach der Operation (Weisman et al. 2000).

Die Eigenschaften von PMMA Knochenzementen hinsichtlich Härte, Dichte, Biegefestigkeit und Druckfestigkeit sind unter anderem gekennzeichnet durch ihre Mischtechnik. Herkömmliche Mischtechniken erzielen bessere Ergebnisse als die Zentrifugiertechnik nach dem Mischen (Eyerer und Jin 1986). Mit Hilfe des Impuls – Echo - Verfahrens lässt sich die Härte (Polymerisationsrate) der Knochenzemente überwachen. Die akustischen Eigenschaften der Knochenzemente stehen in engem Zusammenhang mit den verschiedenen Stufen der Polymerisation (Dunne et al. 2007b). Auch die Zementiertechnik ist von großer Bedeutung für die langfristige Haltbarkeit von Endoprothesen (Fischer et al. 2012).

Die Zugabe von Antibiotika in Acryl - Knochenzemente kann die mechanischen Eigenschaften verändern (Lautenschlager et al. 1976) . 0,5 g Vancomycin statt 1,0 g verbessert mechanische Eigenschaften der Knochenzemente (Baleani et al. 2008) (Bridgens et al. 2008). Lipophilisiertes Vancomycin wirkte sich besser auf die Dauerfestigkeit der Knochenzemente aus als Vancomycin in Pulverform (Klekamp et al. 1999). Hohe Mengen an Gentamicin im Zement können zum Verlust der Gelenkprothesen aufgrund verringerter mechanischer Eigenschaften führen (Dunne et al. 2007a). Je höher der Gentamicin - Gehalt

ist, desto geringer sind Druck- und Biegefestigkeit der Zemente und somit die Langlebigkeit der Gelenkprothesen (Dunne et al. 2008b). In einer Studie wurden Stäbe von Methylmetacrylat mit 0,5 g und 1,5 g Gentamicin beladen und Schafen 3 Monate lang subkutan in die subcostale Region eingepflanzt. Die höher beladenen Gentamicin Stäbe wiesen eine höhere Antibiotika Freisetzung bedingt durch gefüllte Hohlräume und Risse auf, was als Mangel anzusehen ist (Baker und Greenham 1988). Es wurde auch die Einbindung von Chitosan in Gentamicin - beladene Knochenzemente untersucht um die bakterielle Adhärenz und die Biofilmbildung zu verringern (Tan et al. 2012b). Aber es ergab sich kein antibakterieller Nutzen und zudem wirkte sich Chitosan negativ auf die mechanischen Eigenschaften und damit auf die Lebensdauer der Gelenkprothesen aus (Dunne et al. 2008a, Tunney et al. 2008). Die Biofilmbildung kann jedoch effektiv verhindert werden, indem z.B. den Knochenzementen die Kombination von Gentamicin und Clindamycin oder Fusidinsäure zugegeben werden (Neut et al. 2005). Es gibt jedoch auch Studien, die statistisch keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf Biegefestigkeit und E-Modul von Gentamicin - beladenen Hydroxylapatit - Knochenzementen (Sr - HA) gegenüber unbeladenen Sr - HA Zementen zeigen (Liu et al. 2010). Die Verwendung von Gentamicin - haltigen Zementen in der primären Endoprothetik kann zu Resistenzen gegenüber Gentamicin bei koagulasenegativen Staphylokokken führen (KNS) (Hope et al. 1989, Hendriks et al. 2005).

Andererseits senkt die Verwendung antibiotikahaltiger Knochenzemente die Infektionsrate bei primären Hüftendoprothesen um 50 % (Parvizi et al. 2008). Es wurden 21 Tage nach der Implantation hohe bakterizide Konzentrationen des Antibiotikums im umgebenden Knochen gemessen (Marks et al. 1976).

Prophylaxe - Strategien zur Prävention von frühen oder späten hämatogenen Infektionen an Hüftendoprothesen sollten nach Wirtschaftlichkeit, Wirksamkeit und Komplikationen im Zusammenhang mit routinemäßigem Einsatz von Antibiotika gesehen werden (Hanssen 2004) (Jiranek 2005). Werden antibiotikahaltige Zemente routinemäßig als Prophylaxe eingesetzt, kann dies zu Resistenzen führen (Joseph et al. 2003). Die Oberfläche der Knochenzemente ist ein geeignetes Substrat für das Wachstum von Bakterien, auch in Gegenwart von Antibiotika. Deshalb sollten Antibiotika - beladene Knochenzemente klinisch mit Bedacht eingesetzt werden (Kendall et al. 1996). Wird das Antibiotikum jedoch in niedrigen Dosen zugegeben (kleiner oder gleich 1,0g pro 40g Zement), kann es als Prophylaxe von Infektionen ohne

Einfluss auf Toxizität oder mechanische Eigenschaften bedenkenlos eingesetzt werden (Hanssen 2004). Antibiotika - beladene Knochenzemente sollten auf jeden Fall prophylaktisch bei Patienten mit einem hohen Risiko für Infektionen verwendet werden (Jiranek et al. 2006).

Chirurgen und Orthopäden stehen heutzutage vor der Qual der Wahl bei der Auswahl geeigneter Knochenzemente. Hilfe stellend sind dabei eine Vielzahl von Studien. Im Vergleich von Gentamicin - beladenem Knochenzement Refobacin Palacos R zu Refobacin Bone Cement R (2005 veröffentlicht) und SmartSet GHV (2005 veröffentlicht), konnte herausgefunden werden, dass die Nachfolger Zemente nicht dieselben Release - Eigenschaften wie das Original haben (Neut et al. 2010) (Kock et al. 2008) (Simpson et al. 2005). Auch andere Studien zeigen, dass Heraeus Palacos immer noch signifikant bessere mechanische Eigenschaften hat als beispielsweise Schering – Plough Palacos (Bridgens et al. 2008) . Im Vergleich von Palacos R zu Palamed G wurden jedoch in einer Studie keine Unterschiede festgestellt (Hallan et al. 2006).

## 7 Schlussfolgerungen

Die mikrobiologischen Ergebnisse der Arbeit zeigen, dass die antibakterielle Wirksamkeit hinsichtlich der Verhinderung und Bekämpfung des Bakterienwachstums von *S. aureus* (ATCC 29213, VA 415/05, VA 657/05) und *S. epidermidis* (VA 24027/04) am höchsten waren, wenn die Zemente Copal (enthält 1,0 g Gentamicin + 1,0 g Clindamycin) und Copal G + V (enthält 0,5 g Gentamicin + 2,0 g Vancomycin) verwendet wurden.

Bei den verwendeten MRSA Stämmen (ATCC 43300, VA 1574/05) wurde die höchste bakterielle Hemmung bei der Verwendung von Copal G + V (enthält 0,5 g Gentamicin + 2,0 g Vancomycin) beobachtet.

Hinsichtlich der Bakterienzellsuspensionen in drei unterschiedlichen Konzentrationen ( $10^6$ ,  $10^4$  und  $10^2$  KBE pro ml) zu Versuchsbeginn lässt sich schlussfolgern, dass kein signifikanter Unterschied in der Wirksamkeit der Antibiotika zu erkennen ist. Je geringer die Bakterienkonzentration zu Versuchsbeginn war, umso besser wirkte das jeweilige Antibiotikum.

Der antibiotische Zusatz in PMMA – Knochenzementen senkt das Risiko einer periprothetischen Infektion in der Endoprothetik. Dennoch sollten antibiotikahaltige Knochenzemente mit Bedacht eingesetzt werden, da ein Risiko für weitere Resistenzentwicklungen bei Bakterien besteht und der Antibiotika – Zusatz in größeren Mengen außerdem einen mechanischen Nachteil hinsichtlich der Prothesenhaltbarkeit durch höhere Porositäten darstellen kann.

Die Kenntnisse über die antimikrobielle Wirksamkeit in PMMA – Knochenzementen gilt es in nachfolgenden Studien zu vertiefen.

## 8 Literaturverzeichnis

- Anagnostakos K, Kelm J, Regitz T, Schmitt E, Jung W. 2005. In vitro evaluation of antibiotic release from and bacteria growth inhibition by antibiotic-loaded acrylic bone cement spacers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 72 (2):373-378.
- Babst R, Jenny H, Morscher E. 1989. Treatment of infected hip joint arthroplasty. Results of treatment of 62 infected total prosthesis arthroplasties. *Orthopade*, 18 (6):517-526.
- Baker AS, Greenham LW. 1988. Release of gentamicin from acrylic bone cement. Elution and diffusion studies. *J Bone Joint Surg Am*, 70 (10):1551-1557.
- Baleani M, Persson C, Zolezzi C, Andollina A, Borrelli AM, Tigani D. 2008. Biological and biomechanical effects of vancomycin and meropenem in acrylic bone cement. *J Arthroplasty*, 23 (8):1232-1238.
- Barth E, Myrvik QM, Wagner W, Gristina AG. 1989. In vitro and in vivo comparative colonization of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* on orthopaedic implant materials. *Biomaterials*, 10 (5):325-328.
- Berry DJ, Harmsen WS, Cabanela ME, Morrey BF. 2002. Twenty-five-year survivorship of two thousand consecutive primary Charnley total hip replacements: factors affecting survivorship of acetabular and femoral components. *J Bone Joint Surg Am*, 84-A (2):171-177.
- Boelens JJ, Dankert J, Murk JL, Weening JJ, van der Poll T, Dingemans KP, Koole L, Laman JD, Zaat SA. 2000. Biomaterial-associated persistence of *Staphylococcus epidermidis* in pericatheter macrophages. *J Infect Dis*, 181 (4):1337-1349.
- Breusch SJ, Kuhn KD. 2003. Bone cements based on polymethylmethacrylate. *Orthopade*, 32 (1):41-50.
- Bridgens J, Davies S, Tilley L, Norman P, Stockley I. 2008. Orthopaedic bone cement: do we know what we are using? *J Bone Joint Surg Br*, 90 (5):643-647.
- David MZ, Daum RS. 2010. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev*, 23 (3):616-687.
- Dunne N, Hill J, McAfee P, Todd K, Kirkpatrick R, Tunney M, Patrick S. 2007a. In vitro study of the efficacy of acrylic bone cement loaded with supplementary amounts of gentamicin: effect on mechanical properties, antibiotic release, and biofilm formation. *Acta Orthop*, 78 (6):774-785.
- Dunne N, Buchanan F, Hill J, Newe C, Tunney M, Brady A, Walker G. 2008a. In vitro testing of chitosan in gentamicin-loaded bone cement: no antimicrobial effect and reduced mechanical performance. *Acta Orthop*, 79 (6):851-860.



- Dunne NJ, Xu Y, Makem J, Orr I. 2007b. Ultrasonic characterization of the mechanical properties and polymerization reaction of acrylic-based bone cements. *Proc Inst Mech Eng H*, 221 (3):251-261.
- Dunne NJ, Hill J, McAfee P, Kirkpatrick R, Patrick S, Tunney M. 2008b. Incorporation of large amounts of gentamicin sulphate into acrylic bone cement: effect on handling and mechanical properties, antibiotic release, and biofilm formation. *Proc Inst Mech Eng H*, 222 (3):355-365.
- Elson RA, Jephcott AE, McGeachie DB, Verettas D. 1977. Antibiotic-loaded acrylic cement. *J Bone Joint Surg Br*, 59 (2):200-205.
- Eyerer P, Jin R. 1986. Influence of mixing technique on some properties of PMMA bone cement. *J Biomed Mater Res*, 20 (8):1057-1094.
- Fischer CA, Kaszap B, Drexler C, Lehner B, Clarius M. 2012. Cemented total hip arthroplasty in Germany - update 2010. *Z Orthop Unfall*, 150 (3):309-317.
- French GL. 2009. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. *Clin Microbiol Infect*, 15 Suppl 7:10-16.
- Fruhauf G, Heuck D, Tomaschewski R, Witte W, Langer S, Bretschneider M. 1996. Outbreak of infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in an orthopedic septic care unit--measures for eradication and subsequent colonization studies. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*, 134 (3):273-282.
- Gallo J, Kolar M, Novotny R, Rihakova P, Ticha V. 2003. Pathogenesis of prosthesis-related infection. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 147 (1):27-35.
- Gradl G, Horn C, Postl LK, Miethke T, Gollwitzer H. 2011. Antibiotic prophylaxis in primary and revision hip arthroplasty: what is the evidence?. *Orthopade*, 40 (6):520-527.
- Groß U. 2009a. *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 174-175.
- Groß U. 2009b. *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 33-36.
- Hallan G, Aamodt A, Furnes O, Skredderstuen A, Haugan K, Havelin LI. 2006. Palamed G compared with Palacos R with gentamicin in Charnley total hip replacement. A randomised, radiostereometric study of 60 HIPS. *J Bone Joint Surg Br*, 88 (9):1143-1148.
- Hanssen AD. 2004. Prophylactic use of antibiotic bone cement: an emerging standard--in opposition. *J Arthroplasty*, 19 (4 Suppl 1):73-77.
- Heard GS, Oloff LM. 1989. Antibiotic-impregnated bone cement: an in vitro comparative analysis. *J Foot Surg*, 28 (1):54-59.
- Hendriks JG, Neut D, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. 2005. Bacterial survival in the interfacial gap in gentamicin-loaded acrylic bone cements. *J Bone Joint Surg Br*, 87 (2):272-276.

- Hope PG, Kristinsson KG, Norman P, Elson RA. 1989. Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. *J Bone Joint Surg Br*, 71 (5):851-855.
- Jiranek W. 2005. Antibiotic-loaded cement in total hip replacement: current indications, efficacy, and complications. *Orthopedics*, 28 (8 Suppl):s873-877.
- Jiranek WA, Hanssen AD, Greenwald AS. 2006. Antibiotic-loaded bone cement for infection prophylaxis in total joint replacement. *J Bone Joint Surg Am*, 88 (11):2487-2500.
- Joseph TN, Chen AL, Di Cesare PE. 2003. Use of antibiotic-impregnated cement in total joint arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg*, 11 (1):38-47.
- Kendall RW, Duncan CP, Smith JA, Ngui-Yen JH. 1996. Persistence of bacteria on antibiotic loaded acrylic depots. A reason for caution. *Clin Orthop Relat Res*, (329):273-280.
- Klekamp J, Dawson JM, Haas DW, DeBoer D, Christie M. 1999. The use of vancomycin and tobramycin in acrylic bone cement: biomechanical effects and elution kinetics for use in joint arthroplasty. *J Arthroplasty*, 14 (3):339-346.
- Kock HJ, Huber FX, Hillmeier J, Jager R, Volkmann R, Handschin AE, Letsch R, Meeder PJ. 2008. In vitro studies on various PMMA bone cements: a first comparison of new materials for arthroplasty. *Z Orthop Unfall*, 146 (1):108-113.
- Konig DP, Randerath O, Hackenbroch MH. 1999. Nosocomial infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and epidermidis (MRSE) strains. Their importance, prophylaxis and therapy in orthopedic surgery. *Unfallchirurg*, 102 (4):324-328.
- Konig DP, Schierholz JM, Hilgers RD, Bertram C, Perdreau-Remington F, Rutt J. 2001. In vitro adherence and accumulation of *Staphylococcus epidermidis* RP 62 A and *Staphylococcus epidermidis* M7 on four different bone cements. *Langenbecks Arch Surg*, 386 (5):328-332.
- Krenn V, Morawietz L, Jakobs M, Kienapfel H, Ascherl R, Bause L, Kuhn H, Matziolis G, Skutek M, Gehrke T. 2011. Joint endoprosthesis pathology. Histopathological diagnostics and classification. *Pathologe*, 32 (3):210-219.
- Lautenschlager EP, Jacobs JJ, Marshall GW, Meyer PR, Jr. 1976. Mechanical properties of bone cements containing large doses of antibiotic powders. *J Biomed Mater Res*, 10 (6):929-938.
- Layer F, Cuny C, Strommenger B, Werner G, Witte W. 2012. Current data and trends on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 55 (11-12):1377-1386.

- Liu WC, Wong CT, Fong MK, Cheung WS, Kao RY, Luk KD, Lu WW. 2010. Gentamicin-loaded strontium-containing hydroxyapatite bioactive bone cement--an efficient bioactive antibiotic drug delivery system. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 95 (2):397-406.
- Marks KE, Nelson CL, Lautenschlager EP. 1976. Antibiotic-impregnated acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Am*, 58 (3):358-364.
- Neut D, Kluin OS, Thompson J, van der Mei HC, Busscher HJ. 2010. Gentamicin release from commercially-available gentamicin-loaded PMMA bone cements in a prosthesis-related interfacial gap model and their antibacterial efficacy. *BMC Musculoskelet Disord*, 11:258.
- Neut D, van de Belt H, Stokroos I, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. 2001. Biomaterial-associated infection of gentamicin-loaded PMMA beads in orthopaedic revision surgery. *J Antimicrob Chemother*, 47 (6):885-891.
- Neut D, de Groot EP, Kowalski RS, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. 2005. Gentamicin-loaded bone cement with clindamycin or fusidic acid added: biofilm formation and antibiotic release. *J Biomed Mater Res A*, 73 (2):165-170.
- O'Gara JP, Humphreys H. 2001. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *J Med Microbiol*, 50 (7):582-587.
- Parvizi J, Saleh KJ, Ragland PS, Pour AE, Mont MA. 2008. Efficacy of antibiotic-impregnated cement in total hip replacement. *Acta Orthop*, 79 (3):335-341.
- Proctor RA, Peters G. 1998. Small colony variants in staphylococcal infections: diagnostic and therapeutic implications. *Clin Infect Dis*, 27 (3):419-422.
- Proctor RA, Kahl B, von Eiff C, Vaudaux PE, Lew DP, Peters G. 1998. Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. *Clin Infect Dis*, 27 Suppl 1:S68-74.
- Simpson PM, Dall GF, Breusch SJ, Heisel C. 2005. In vitro elution and mechanical properties of antibiotic-loaded SmartSet HV and Palacos R acrylic bone cements. *Orthopade*, 34 (12):1255-1262.
- Spiegel U, Patzold R, Friederichs J, Militz M, Bühren V. 2012. Risk factors for failed cleansing following periprosthetic delayed hip prosthesis infection. *Orthopade*, 41 (6):459-466.
- Tan H, Guo S, Yang S, Xu X, Tang T. 2012a. Physical characterization and osteogenic activity of the quaternized chitosan-loaded PMMA bone cement. *Acta Biomater*, 8 (6):2166-2174.
- Tan H, Peng Z, Li Q, Xu X, Guo S, Tang T. 2012b. The use of quaternised chitosan-loaded PMMA to inhibit biofilm formation and downregulate the virulence-associated gene expression of antibiotic-resistant staphylococcus. *Biomaterials*, 33 (2):365-377.

- Tunney MM, Brady AJ, Buchanan F, Newe C, Dunne NJ. 2008. Incorporation of chitosan in acrylic bone cement: effect on antibiotic release, bacterial biofilm formation and mechanical properties. *J Mater Sci Mater Med*, 19 (4):1609-1615.
- van de Belt H, Neut D, Schenk W, van Horn JR, van Der Mei HC, Busscher HJ. 2001. *Staphylococcus aureus* biofilm formation on different gentamicin-loaded polymethylmethacrylate bone cements. *Biomaterials*, 22 (12):1607-1611.
- Weisman DL, Olmstead ML, Kowalski JJ. 2000. In vitro evaluation of antibiotic elution from polymethylmethacrylate (PMMA) and mechanical assessment of antibiotic-PMMA composites. *Vet Surg*, 29 (3):245-251.
- Witte W, Braulke C, Heuck D, Cuny C. 1994. Analysis of nosocomial outbreaks with multiply and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany: implications for hospital hygiene. *Infection*, 22 Suppl 2:S128-134.

## 9 Anhang

Tabelle 32 (zu Abb. 3): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	0	0	2	2	2	7
nach 48 h	0	0	0	0	3	6
nach 72 h	0	0	0	0	0	9
nach 96 h	0	0	0	0	0	9
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 33 (zu Abb. 4): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	3	5	6	6	8	1
nach 48 h	0	0	3	4	5	4
nach 72 h	0	0	1	1	2	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	9
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 34 (zu Abb. 5): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	9	9	9	9	9	0
nach 48 h	8	9	9	9	9	0
nach 72 h	7	8	9	9	9	0
nach 96 h	9	9	9	9	9	0
nach 120 h	3	3	9	9	9	0

Tabelle 35 (zu Abb. 6): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* ATCC 29213 mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	4	6	9	9	9	0
nach 48 h	1	2	6	7	9	0
nach 72 h	1	1	3	4	7	2
nach 96 h	1	1	1	1	1	9
nach 120 h	0	0	1	1	1	9

Tabelle 36 (zu Abb. 7): Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	11	0
nach 24 h	0	0	0	0	0	11
nach 48 h	0	0	0	0	0	11
nach 72 h	0	0	0	0	0	11
nach 96 h	0	0	0	0	0	11
nach 120 h	0	0	0	0	0	11

Tabelle 37 (zu Abb. 8): Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	11	0
nach 24 h	0	0	0	0	0	11
nach 48 h	0	0	0	0	0	11
nach 72 h	0	0	0	0	0	11
nach 96 h	0	0	0	0	0	11
nach 120 h	0	0	0	0	0	11

Tabelle 38 (zu Abb. 9): Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	11	0
nach 24 h	0	0	0	0	0	11
nach 48 h	0	0	0	0	0	11
nach 72 h	0	0	0	0	0	11
nach 96 h	0	0	0	0	0	11
nach 120 h	0	0	0	0	0	11

Tabelle 39 (zu Abb. 10): Keimwachstums von elf Proben *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	11	0
nach 24 h	0	3	9	11	11	0
nach 48 h	1	2	8	8	9	2
nach 72 h	2	2	4	4	10	1
nach 96 h	0	0	0	0	0	11
nach 120 h	0	0	0	0	0	11

Tabelle 40 (zu Abb. 11): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	0	1	3	3	3	6
nach 48 h	0	0	2	2	3	6
nach 72 h	0	0	0	0	0	9
nach 96 h	0	0	0	0	0	9
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 41 (zu Abb. 12): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	2	5	6	6	6	3
nach 48 h	2	4	5	6	6	3
nach 72 h	0	1	4	5	5	4
nach 96 h	0	0	1	1	1	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 42 (zu Abb. 13): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	7	8	8	9	9	0
nach 48 h	6	8	9	9	9	0
nach 72 h	7	7	8	9	9	0
nach 96 h	7	7	8	8	8	1
nach 120 h	2	3	6	8	8	1



Tabelle 43 (zu Abb. 14): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 415/05 mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	3	5	9	9	9	0
nach 48 h	2	5	9	9	9	0
nach 72 h	0	0	5	6	8	1
nach 96 h	0	0	1	1	4	5
nach 120 h	0	0	0	1	1	8

Tabelle 44 (zu Abb. 15): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	0	0	0	0	0	9
nach 48 h	0	0	0	0	0	9
nach 72 h	0	0	0	0	0	9
nach 96 h	0	0	0	0	0	9
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 45 (zu Abb. 16): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	3	5	5	5	3
nach 48 h	0	0	1	2	3	5
nach 72 h	0	0	0	0	0	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 46 (zu Abb. 17): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	3	7	9	9	9	0
nach 48 h	3	8	8	8	9	0
nach 72 h	4	8	8	8	9	0
nach 96 h	4	7	8	9	9	0
nach 120 h	2	4	5	6	6	3

Tabelle 47 (zu Abb. 18): Keimwachstums von neun Proben *S. aureus* VA 657/05 mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	9	0
nach 24 h	1	7	9	9	9	0
nach 48 h	0	1	4	7	8	1
nach 72 h	0	0	0	0	7	2
nach 96 h	0	0	0	0	3	6
nach 120 h	0	0	0	0	0	9

Tabelle 48 (zu Abb. 19): Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	0	0	0	2	6
nach 48 h	0	0	0	0	0	8
nach 72 h	0	0	0	0	0	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 49 (zu Abb. 20): Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	0	0	0	1	7
nach 48 h	0	0	0	0	0	8
nach 72 h	0	0	0	0	0	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 50 (zu Abb. 21): Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	0	0	0	1	7
nach 48 h	0	0	0	0	0	8
nach 72 h	0	0	0	0	0	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 51 (zu Abb. 22): Keimwachstums von acht Proben *S. aureus* VA 1574/05 (MRSA) mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	2	5	8	8	0
nach 48 h	0	2	2	2	8	0
nach 72 h	0	0	0	2	3	5
nach 96 h	0	0	0	0	2	6
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 52 (zu Abb. 23): Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 mit Palacos R nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	0	0	0	0	2	6
nach 48 h	0	0	0	0	0	8
nach 72 h	0	0	0	0	0	8
nach 96 h	0	0	0	0	0	8
nach 120 h	0	0	0	0	0	8

Tabelle 53 (zu Abb. 24): Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 mit Palacos R + G nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	6	8	8	8	8	0
nach 48 h	5	6	8	8	8	0
nach 72 h	5	5	8	8	8	0
nach 96 h	0	2	5	6	7	1
nach 120 h	0	0	0	0	4	4

Tabelle 54 (zu Abb. 25): Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 mit Copal nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	kein Wachstum	< 1000	<10 000	< 100 000	<1 000 000	≥1 000 000
nach 0 h	0	0	0	0	8	0
nach 24 h	8	8	8	8	8	0
nach 48 h	8	8	8	8	8	0
nach 72 h	8	8	8	8	8	0
nach 96 h	6	7	7	7	7	1
nach 120 h	4	6	6	6	6	2

Tabelle 55 (zu Abb. 26): Keimwachstums von acht Proben *S. epidermidis* VA 24027/04 mit Copal G + V nach 0 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h und 120 h bei einer KBE von  $10^6$  / ml zu Versuchsbeginn

	<b>kein Wachstum</b>	<b>&lt; 1000</b>	<b>&lt;10 000</b>	<b>&lt; 100 000</b>	<b>&lt;1 000 000</b>	<b>≥1 000 000</b>
<b>nach 0 h</b>	0	0	0	0	8	0
<b>nach 24 h</b>	6	7	7	8	8	0
<b>nach 48 h</b>	8	8	8	8	8	0
<b>nach 72 h</b>	3	5	8	8	8	0
<b>nach 96 h</b>	1	3	8	8	8	0
<b>nach 120 h</b>	0	2	3	5	7	1

## 10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Frau Dr. med. Sigrun Eick und Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Pfister für die Überlassung des Themas bedanken sowie für die gute Betreuung meiner Arbeit. Mein besonderer Dank gilt dabei Frau Dr. Eick für ihre fachliche Beratung und ihre ständige Ansprechbarkeit bei auftretenden Fragen. Des Weiteren danke ich sehr Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Pfister für die freundliche Weiterbetreuung meines Themas.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. E. Straube, dass ich die Einrichtungen seines Institutes als Doktorand nutzen durfte.

Mein weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Mikrobiologie für ihre Unterstützung bei organisatorischen Belangen. Besonders danke ich Frau C. Ranke, die mir bei Fragen zur Versuchsdurchführung stets hilfreich zur Seite stand.

Meiner Familie möchte ich für ihre liebevolle Unterstützung während meiner Studienzeit und darüber hinaus ganz herzlich danken.

# 11 Lebenslauf

**Name** : Friederike Wäldrich  
**Geburtsname** : Wäldrich  
**Geburtstag** : 30. Juni 1984  
**Geburtsort** : Weimar

## **Schulbildung:**

09 / 1991 - 07 / 1995: Grundschule Kölleda

09 / 1995 - 06 / 2003: Prof. Fritz Hofmann Gymnasium Kölleda

## **Studium:**

10 / 2003 - 12 / 2008 : Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena

27.01. 2009 : Approbation als Zahnärztin

## **Berufliche Tätigkeit:**

04 / 2009 - 03 / 2011 : Vorbereitungsassistentin in der Gemeinschaftspraxis Streib, Obersulm

04 / 2011 - 03 / 2013 : Angestellte Zahnärztin in der Gemeinschaftspraxis Streib, Obersulm

04 / 2013 - 09 / 2013 : Selbständige Zahnärztin bei Lifedent Switzerland AG, Schaffhausen

10 / 2013 - heute : Angestellte Zahnärztin bei den Zahnärzten am alten Park, Radolfzell

Insel Reichenau, den 22.12.2014

.....  
(Friederike Wäldrich)

## 12 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Dr. med. dent. Sigrun Eick und Prof. Dr. med. Wolfgang Pfister,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Insel Reichenau, den 22.12.2014

.....  
(Friederike Wäldrich)